

ANNEE : 1971

N°

44

THESE
pour le
DOCTORAT EN MEDECINE
(Diplôme d'Etat)

par

Jean-Louis TAILLEMITE

né le 13.6.1939

à : Bourges (Cher)

Présentée et soutenue publiquement le :

ETUDE TERATOLOGIQUE EXPERIMENTALE
DE LA DAUNORUBICINE

Et revue bibliographique de l'action tératogène
expérimentale et clinique des antitumoraux.

Président : M. Charles ROUX Professeur sans chaire

FACULTE DE MEDECINE SAINT-ANTOINE PARIS

ANNEE : 1971

N°

THESE
pour le
DOCTORAT EN MEDECINE
(Diplôme d'Etat)

par

Jean-Louis TAILLEMITE

né le 13.6.1939

à : Bourges (Cher)

Présentée et soutenue publiquement le :

ETUDE TERATOLOGIQUE EXPERIMENTALE
DE LA DAUNORUBICINE

Et revue bibliographique de l'action tératogène
expérimentale et clinique des antitumoraux.

Président : M. Charles ROUX Professeur sans chaire



UNIVERSITE DE PARIS VI
FACULTE DE MEDECINE SAINT-ANTOINE

Professeurs titulaires :

MM. ANDRE R.	Hématologie
BRISAUD H.	Pédiatrie
BROCARD R.	Médecine
BUGNARD L.	Biophysique
CAROLI J.	Médecine
CERBONNET G.	Chirurgie
CHERIGIE Ed.	Radiologie
CHIGOT P.L.	Chirurgie infantile
CONTE M.	Médecine
DAGUET L.	Bactériologie
DEBRAY J.	Médecine
FLABEAU F.	Chirurgie
GERBEAUX J.	Thérapeutique
GOSSET J.	Chirurgie
HUGELIN A.	Physiologie
LAPLANE R.	Pédiatrie
LELORIER G.	Obstétrique
LOEPER J.	Médecine expérimentale-Immunologie
LOYGUE J.	Chirurgie
MAROIS M.	Histologie
MERGER R.	Obstétrique
MILHAUD G.	Biophysique

Professeurs sans chaire

-:-:-:-:-:-:-:-

MM.	CHALUT J.	Radiologie
Mne	CHAPUT A.	Stomatologie
	GIRARD F.	Physiologie
	GOLVAN Y.J.	Parasitologie
	LESTRADET H.	Pédiatrie
	PICARD J.	Biochimie
	ROUX Ch.	Embryologie

Maîtres de conférences

-:-:-:-:-:-:-:-

MM.	AKOUN G.	Médecine
	ARDAILLOU R.	Physiologie
	BAUX S.	Chirurgie
	BITKER M.	Urologie
	BOURY G.	Chirurgie
	BRICOUT F.	Bactério-Virologie
	CATINAT J.	Médecine
	CHEYMOL G.	Pharmacologie
	CHOUARD Cl.	O.R.L.
	CLOAREC M.	Médecine
	CONTAMIN F.	Médecine
	COSCAS G.	Ophtalmologie
	DAUTRY P.	Chirurgie
	DELIGNE P.	Anesthésiologie
	DOYON D.	Radiologie
	DRY J.	Médecine
	DUHAMEL G.	Hématologie

Enseignants Associés

-:-:-:-:-:-:-:-

M.C.A Associé - M. ELIAKIS Em. Médecine légale

Enseignants Contractuels

-:-:-:-:-:-:-:-

M.C.A. M. KIRSCH Physiologie Biochimique

A MES PARENTS

A TOUTE MA FAMILLE

A MES AMIS DU LABORATOIRE D'EMBRYOLOGIE

En témoignage de mon affection.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR ROUX

Professeur à la Faculté de Médecine Saint-Antoine.

Il nous a fait le grand honneur
d'accepter la présidence de cette
thèse.

Il nous en a inspiré le sujet et
a bien voulu nous guider dans sa
réalisation.

Qu'il trouve ici le témoignage de
notre reconnaissance et de notre
profond respect.

A MES MAITRES DANS LES HÔPITAUX.

EXTERNAT

- Professeur MERLE D'AUBIGNE
- Professeur MIALARET
- Professeur BASTIN
- Professeur BROCARD
- Professeur SERINGE
- Prf. Agrégé MACREZ
- Professeur MICHAUX
- Professeur LAPLANE
- Professeur MOZZICONACCI

INTERNAT

- Professeur KOURILSKY
- Professeur CANIVET
- Professeur LESTRADET
- Professeur AUSSANAIRE
- Docteur SALET
- Professeur LEFEVRE
- Professeur MOZZICONACCI
- Professeur LAPLANE

A V A N T P R O P O S

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

Depuis qu'en 1935 HALE découvrit l'action tératogène de la carence en vitamine A on sait que des facteurs exogènes peuvent perturber le développement des mammifères. Des travaux expérimentaux ont permis de reconnaître de très nombreux facteurs tératogènes. Parmi ceux-ci les agents antitumoraux dont l'action tératogène est connue chez l'oiseau depuis 1949 (KARNOFSKY) ont une place importante. En 1952 THIERSE mettait en évidence l'action tératogène de l'aminoptérine sur le foetus humain.

L'appréciation du pouvoir tératogène d'une substance chimique chez l'homme repose sur des éléments expérimentaux et cliniques. L'étape expérimentale est primordiale. Pour toute substance à utilisation thérapeutique elle doit précéder l'utilisation clinique. Elle ne pose pas de gros problèmes de réalisation technique. Son interprétation est par contre plus délicate.

D'une part on connaît la variabilité d'une espèce à l'autre. On sait par exemple que la cortisone est tératogène chez la Souris et le Lapin alors qu'elle ne l'est pas chez le Rat. Des discordances de ce type sont très fréquentes. Par suite il sera toujours très difficile de transposer à l'homme les résultats expérimentaux.

D'autre part, comme toujours en thérapeutique, intervient la notion de risque relatif qui est fonction de l'utilité réelle de la substance considérée. Si elle ne présente qu'un intérêt thérapeutique mineur, elle devra être écartée au moindre doute. Si au contraire elle présente un intérêt majeur, il faudra peser les risques relatifs résultant du traitement pour l'embryon, ou de l'abstention thérapeutique, pour la femme.

Au-delà des résultats expérimentaux seules les données cliniques permettraient de trancher. Mais l'on conçoit qu'il est très difficile d'avoir un nombre significatif d'observations.

Toutes ces questions se posent d'une façon particulièrement aiguë pour les antitumoraux. Beaucoup sont tératogènes expérimentalement. En clinique bien que la preuve formelle de leur action tératogène n'ait été que rarement apportée il paraît prudent, à l'heure actuelle, de les considérer tous à priori comme dangereux. Ce problème est important. En effet il existe actuellement un très grand nombre de ces substances. Leur efficacité a révolutionné le traitement et le pronostic de nombre d'affections malignes, surtout en hématologie, de telle sorte qu'il ne saurait être question de se passer de leur emploi dans ce domaine. Or ce type d'indications concerne essentiellement des sujets jeunes parmi lesquels des femmes en âge de procréer. En outre récemment les indications de ces mêmes substances, dénommées alors "immunodépresseurs", se sont élargies à toutes les maladies considérées comme relevant d'un mécanisme immunologique.

Actuellement, en cours de traitement, on a habituellement recours à une contraception systématique. En cas de survenue d'une gestation l'avortement thérapeutique sera presque toujours pratiqué.

Or on peut se demander si des notions plus précises sur l'ampleur du rôle tératogène respectif des différentes substances ne permettraient pas d'envisager en toute sécurité le déroulement d'une gestation chez ces femmes jeunes qui ont maintenant, précisément grâce aux traitements, une survie longue.

Le problème généralement envisagé est celui du développement embryonnaire proprement dit, c'est-à-dire des perturbations de l'organogénèse qui peuvent survenir pendant les premières semaines de la gestation. En fait il n'est pas impossible que la pathologie du développement ne se limite pas à cette période.

a) - Les produits antiméiotiques ne peuvent-ils avoir une action néfaste pour le fœtus, c'est à dire au-delà des premiers mois de gestation ?

b) - Ne pourrait-il exister un risque embryo-fœtal si la mère a reçu pendant de nombreuses années un antiméiotique et que ce traitement est arrêté avant et pendant la grossesse ?

c) - Enfin existe-t-il un risque de voir apparaître des malformations ou des mutations à la deuxième génération ?

Ce risque à longue échéance est actuellement totalement inconnu et ne peut être étudié en raison de l'introduction trop nouvelle de ce type de traitement.

1 - Des progrès dans ces domaines peuvent être obtenus par deux directions de recherches.

D'une part la voie expérimentale qui permettra d'approfondir les mécanismes d'action des antiméitotiques et leur toxicité in utero pour l'animal.

D'autre part une voie clinique, comportant l'examen systématique non seulement macroscopique, mais aussi histologique et cytogénétique, voire biochimique et enzymatique, des embryons recueillis par avortement thérapeutique ou des enfants nés de femmes traitées par les antiméitotiques pendant leur grossesse.

2 - Dans ce travail nous apportons, dans ces deux voies de recherche, une contribution à la connaissance de ces problèmes.

Sur le plan expérimental nous avons pu mettre en évidence le rôle tératogène de la Rubidomycine chez le Rat. Grâce à la collaboration cytogénétique du Dr. EMERIT nous avons pu montrer son action dans les cellules foetales dont témoignent les anomalies chromosomiques observées. Sur le plan clinique nous rapportons trois observations de femmes traitées par divers antiméitotiques pendant leur grossesse et dont nous avons pu examiner les foetus. Une étude des chromosomes foetaux a été réalisée grâce à une culture de tissus foetaux.

Après avoir exposé nos données personnelles nous ferons une revue des connaissances actuelles, expérimentales et cliniques, sur le rôle tératogène des antitumoraux.

ETUDE EXPERIMENTALE DE
L'ACTION DE LA DAUNORUBICINE IN UTERO

La Rubidomycine est un antibiotique du groupe des anthracyclines, extrait en 1962 d'un streptocoque terricole : le streptocoque coeruleorubidus. Cet antibiotique a des propriétés antimitotiques importantes (DUBOST 1963). Parallèlement à cette découverte, une autre équipe isole un antibiotique à action fortement cytostatique qu'ils appellent la DAUNOMYCINE (DI MARCO 1963).

Des études ultérieures réalisées dans les deux laboratoires ont montré l'identité complète tant du point de vue physicochimique que du point de vue biologique de la Rubidomycine et de la Daunomycine (DESPOIS 1967, TONG 1967), que l'on désigne désormais sous la dénomination commune de DAUNORUBICINE (D.R.).

Depuis sa découverte la Daunorubicine a fait l'objet de très nombreux travaux qui ont permis de préciser les propriétés et les activités de cet antimitotique.

La Daunorubicine est utilisée en clinique dans le traitement de nombreuses hémopathies.

Elle est utilisée couramment dans le traitement des leucémies aiguës de l'enfant et de l'adulte (J. BERNARD 1967). Elle a été utilisée couramment dans le traitement des leucémies myéloïdes chroniques (TANZER 1967); dans le traitement de la maladie de Hodgkin, la Daunorubicine a pu présenter quelques avantages (MATHE 1967). Enfin la Daunorubicine a pu être employée dans le traitement de néoplasies diverses, lymphosarcomes (WEIL 1967), tumeurs néoplasiques solides de l'enfant (LEMERLE SCHWEISGUTH 1967).

Nous envisagerons ici son :

- mécanisme d'action
- activité tératogène
- retentissement sur les chromosomes

MECANISME D'ACTION

- Les études in vitro ont montré la fixation au niveau nucléaire de la Daunorubicine.

La Daunorubicine tritiée se fixe pour 50 à 65 % au niveau du noyau.

- La Daunorubicine interfère avec le métabolisme des acides nucléiques (MARAL 1967). L'étude en autoradiographie de l'incorporation de thymidine et d'uridine tritiées par des cellules KB en culture montre que la Daunorubicine inhibe les synthèses d'acides nucléiques. Son action est très rapide et importante en ce qui concerne l'ADN, dont elle empêche la replication ; elle est moins rapide et moins accusée pour l'ARN.

La Daunorubicine agit donc essentiellement au niveau de l'ADN, son action sur l'ARN étant secondaire à celle sur l'ADN.

Les mêmes auteurs ont pu montrer que son activité n'est pas en rapport avec un blocage spécifique du métabolisme énergétique. Ils concluent que la Daunorubicine tire son activité de son action sur les acides nucléiques, en particulier sur l'ADN.

L'action inhibitrice est due à la liaison de la Daunorubicine avec la chaîne d'ADN. Le site de fixation serait au niveau des bases puriques et pyrimidiques (RUSCONI 1966).

La fixation sur l'ADN entraînerait soit une inhibition de la DNA polymérase (DNA dépendante), soit empêcherait, en réunissant les deux chaînes d'ADN, l'action de cette polymérase (DIMARCO 1965).

ETUDE DE L'ACTIVITE TERATOGENE DE LA DAUNORUBICINE

Les travaux de JULOU et Coll. (1967) n'ont pas montré d'action tératogène chez le poulet, la souris et le lapin.

Chez le poulet, ces auteurs n'ont pas noté d'action tératogène du produit lors d'injections intra-vitellines de Daunorubicine à la dose de 25 ou 50 µg par oeuf.

De même on ne constate pas d'action tératogène chez la souris. Les femelles ont reçu de la Daunorubicine pendant les 8 premiers jours de la gestation.

Il n'a pas non plus été noté d'action tératogène chez le lapin. Les lapins ont été traités pendant les 15 premiers jours de la gestation. Les doses ont varié de 0,25 mg/Kg/jour à 0,10 et 0,05 mg/Kg/jour en injections intraveineuses. On peut remarquer que ces doses sont nettement plus basses que celles qui sont utilisées en thérapeutique (1 à 2 mg/Kg). Néanmoins, on constate avec les doses les plus fortes une action abortive importante (100 % et 66 %); 97 foetus ont été examinés et 4 seulement présentaient des malformations. Ces résultats sont peu différents des résultats obtenus chez les témoins et permettent aux auteurs de conclure à l'absence d'action tératogène.

Nous avons personnellement effectué une étude tératologique sur trois espèces animales : la Souris, le Hamster, le Rat. Deux souches différentes de rats ont été étudiées : Wistar et Sprague-Dawley. Notre étude a été faite à des doses variables, choisies en fonction de l'étude de toxicité aiguë et chronique pratiquée chez la souris (JULOU 1967) et aussi proches que possible des doses utilisées en clinique humaine.

I . ETUDE TERATOGENE CHEZ LA SOURIS (Tableau I)

Une seule dose a été étudiée: 3 mg/Kg/jour.

1° - Une première série est composée de 10 Souris qui ont reçu 3 mg/Kg/jour de Daunorubicine en injection intrapéritonéale les 6^{ème}, 7^{ème} et 8^{ème} jour de la gestation (le jour où l'on constate la présence de spermatozoïdes dans le vagin est compté comme le 1^{er} jour de la gestation). Les Souris sont tuées et les foetus prélevés le 19^{ème} jour de la gestation.

- La mortalité foetale est de 50 %.
- 25 foetus ont été examinés aucun ne présentait d'anomalie externe, ni de malformation interne à la dissection.

2° - Une deuxième série est composée de 15 Souris qui ont reçu 3 mg/Kg/jour en injection intrapéritonéale, les 7 ème, 8 ème et 9 ème jour .

- La mortalité foetale est de 21 %.
- 94 foetus vivants ont été examinés. Un foetus présentait une microphthalmie, un autre une crosse aortique à droite, soit environ 2 % de malformations, ce qui n'est nullement significatif.

Ces résultats sont en rapport avec ceux précédemment publiés où l'injection de 1,25 mg/Kg/jour pendant 8 jours n'entraînait aucune malformation foetale (JULOU 1967).

Il ne semble donc pas exister d'action tératogène chez la Souris. Son action abortive est importante à la dose testée lorsque le traitement est fait les 6 ème, 7 ème et 8 ème jours.

II . ETUDE TERATOGENE CHEZ LE HAMSTER (Tableau II)

Deux doses ont été testées.

1° - 3 mg/Kg/jour

14 femelles ont reçu une dose de 3 mg/Kg/jour en injection intrapéritonéale, les 6 ème, 7 ème et 8 ème jours de la gestation. Le jour où l'on constate la présence de spermatozoïdes dans le vagin est compté comme le 1 er jour de la gestation. Le sacrifice au 15 ème jour des mères traitées a permis de recueillir 11 foetus.

- La mortalité foetale est considérable : 84 %.
- Le nombre de foetus vivants est trop restreint pour pouvoir juger d'une action tératogène.

2° - 2 mg/Kg/jour

9 femelles ont reçu une dose de 2 mg/Kg/jour en injection intrapéritonéale, les 6 ème, 7 ème et 8 ème jours de la gestation. Le sacrifice au 15 ème jour des mères traitées a permis de recueillir 43 foetus vivants.

- La mortalité foetale est importante : 46 %.
- Nous n'avons trouvé aucune malformation à l'examen des foetus. La Daunorubicine aux doses testées ne semble donc pas avoir d'action tératogène. Par contre son action abortive est très importante.

TABLEAU I

DATE DU TRAITEMENT	NOMBRE DE GESTATIONS	NOMBRE DE FOETUS VIVANTS	MORTALITE FOETALE	POURCENTAGE DE FOETUS MALFORMES
6° - 8° j	10	25	50 %	0
7° - 9° j	15	94	21 %	0

S O U R I S

DAUNORUBICINE : 3 mg/Kg/jour en injection intrapéritonéale

TABLEAU II

DOSES	NOMBRE DE GESTATIONS	NOMBRE DE FOETUS VIVANTS	MORTALITE FOETALE	POURCENTAGE DE FOETUS MALFORMES
3 mg/Kg/j 6° - 8° j	14	11	84 %	0
2 mg/Kg/j 6° - 8° j	9	43	46 %	0

H A M S T E R S

DAUNORUBICINE : en injection intrapéritonéale

III . ETUDE TERATOGENE CHEZ LE RAT

A - RAT WISTAR (Tableau III)

Trois doses ont été testées.

1° - 3 mg/Kg/jour

31 Rattes ont reçu 3 mg/Kg/jour en injection intrapéritonéale, les 7 ème, 8 ème et 9 ème jours de la gestation.

Les Rattes sont tuées et les foetus prélevés le 21 ème jour.

- La mortalité foetale est de 32,5 %.

- 232 foetus ont été recueillis, examinés et disséqués. 106 d'entre eux (soit 45,5 %) étaient malformés.

Avant tout il s'agit de malformations oculaires détectées à l'examen macroscopique et dont de nombreux exemples ont été étudiés histologiquement. Celles-ci seront détaillées plus bas.

- On a trouvé d'autre part 12 anomalies cardiaques. Certaines d'entre elles ont fait l'objet d'une étude histologique.

- Des anomalies céphaliques ont été rencontrées chez 10 foetus. Il s'agissait d'alopécies cutanées circonscrites de la région céphalique avec inclusion de tissu nerveux (4 foetus) - Photos I et II - , et d'encéphalocèles (6 foetus).

- Enfin on a noté quelques anomalies de l'appareil urinaire. Il s'agit d'un rein en fer à cheval dont la survenue spontanée est exceptionnelle chez le Rat. D'autre part 23 urétérohydronéphroses volumineuses ont été constatées, mais on sait que ce type de malformations peut survenir spontanément chez le Rat.

A cette dose la Daunorubicine a une action tératogène chez le Rat WISTAR.

2° - 2 mg/Kg/jour

Dans cette série 26 Rattes ont été traitées par 2 mg/Kg/jour de Daunorubicine en injection intrapéritonéales, du 7 ème au 14 ème jour, le produit ne manifestant pas de toxicité aigüe à cette dose.

111 foetus vivants ont été recueillis le 21 ème jour de la gestation. Nous avons compté 15 avortements complets sur 26 gestations, et la mortalité foetale totale est considérable : 62 %.

La Daunorubicine s'est donc montrée très abortive dans cette série d'animaux.

Certains foetus ont été utilisés pour étude chromosomique.

Sur 94 foetus examinés et disséqués nous avons trouvé 24 foetus malformés (25,5 %).



Photo I

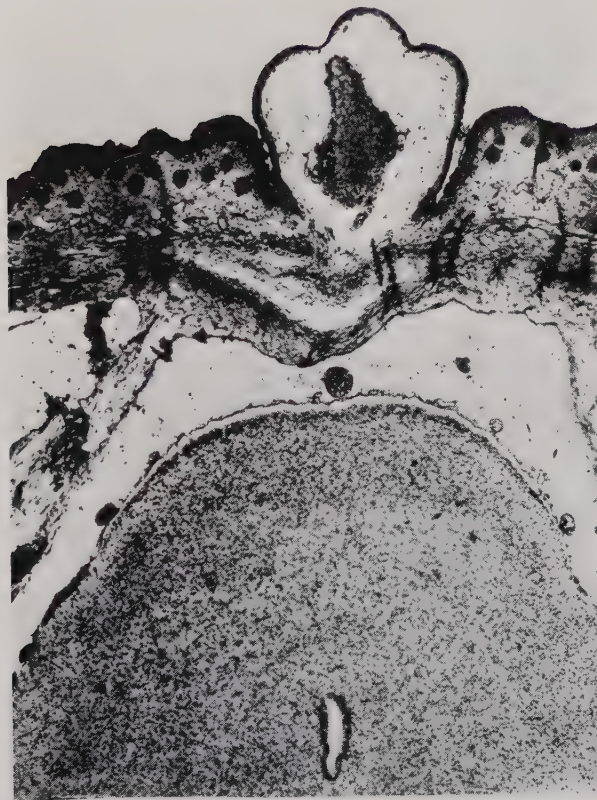


Photo II

Photos I et II :

Alopécie cutanée circonscrite avec inclusion de tissus nerveux chez trois fœtus de rat Wistar nés de mères traitées par 3 mg/Kg/jour de Daunorubicine du 7^e au 9^e jour de la gestation.

8 foetus avaient des anomalies oculaires (8,4 %) : 4 microphthalmies et 4 anophtalmies.

7 foetus avaient des anomalies cardiovasculaires (7,4 %).

Enfin 9 foetus présentaient une urétérohydronéphrose volumineuse.

Nous n'avons pas noté d'anomalies cérébrales.

3° - 1 mg/Kg/jour

9 Rattes ont été traitées par 1 mg/Kg/jour de Daunorubicine en injection intrapéritonéales, du 7 ème au 14 ème jour de la gestation.

Il n'a pas été constaté d'avortement complet. La mortalité foetale est de 16,6 %.

70 foetus ont été recueillis le 21 ème jour de la gestation.

64 foetus ont été examinés et disséqués, 13 présentaient des malformations : 2 foetus ont une microphthalmie, et 11 foetus ont des urétérohydronéphroses importantes.

A cette dose l'action tératogène de la Daunorubicine est donc faible.

B - RAT SPRAGUE-DAWLEY (Tableau IV)

Nous avons fait une deuxième étude de l'action tératogène de la Daunorubicine chez le Rat en utilisant des animaux de souche Sprague-Dawley.

21 Rattes ont été traitées par 3 mg/Kg/jour en injection intrapéritonéales, les 7 ème, 8 ème et 9 ème jour de la gestation.

Nous avons constaté un avortement complet.

91 foetus vivants ont été recueillis le 21 ème jour de la gestation.

La mortalité foetale est importante : 57,4 %.

Cette nouvelle série nous a permis de confirmer les premiers résultats établis.

En effet la Daunorubicine à la dose de 3 mg/Kg/jour s'avère tératogène pour cette souche de Rat.

Sur 91 foetus vivants examinés 63 présentent une ou plusieurs malformations (69 %). - Photo III -

52 foetus ont des anomalies oculaires, qui apparaissent comme la malformation la plus fréquente (57 %).

8 foetus ont des anomalies cardiaques qui seront détaillées ci-dessous (8,8 %).

9 foetus ont une urétérohydronéphrose volumineuse bilatérale.

Enfin 12 ont des anomalies cérébrales (13 %). On constate dans cette série des malformations cérébrales beaucoup plus graves que dans la précédente série.



Photo III

Photo III :

Portée de rats Sprague-Dawley nés de mères traitées par Daunorubicine (3 mg/Kg/jour du 7^e au 9^e jour de la gestation).

- cinq fœtus présentent une anophtalmie,
- un fœtus une cœlosomie,
- un autre une anencéphalie. Un fœtus est petit et œdédié, enfin un fœtus présente une macrostomie évidente.

R A T S W I S T A R

DAUNORUBICINE : Injection intrapéritonéale

DOSES	NOMBRE DE GESTATIONS	NOMBRE DE FOETUS VIVANTS	MORTALITE FOETALE	POURCENTAGE DE FOETUS MALFORMES
3 mg/Kg/j 7° - 9° j	31	232	32,5 %	45 %
2 mg/Kg/j 7° - 14° j	21	111	62 %	25,5 %
1 mg/Kg/j 7° - 14° j	9	70	16,6 %	20 %
M A L F O R M A T I O N S				
	YEUX	COEUR	REIN	CERVEAU
3 mg/Kg/j 7° - 9° j	33 %	5,2 %	10,3 %	4,3 %
2 mg/Kg/j 7° - 14° j	8,4 %	7,4 %	9,5 %	0 %
1 mg/Kg/j 7° - 14° j	3 %	0 %	17 %	0 %

TABLEAU III

RAT SPRAGUE-DAWLEY

NOMBRE DE GESTATIONS	NOMBRE DE FÆTUS VIVANTS	MORTALITE FÆTALE	POURCENTAGE DE FÆTUS MALFORMES
21	91	57,4	69 %

MALFORMATIONS

YEUX	CÆUR	REIN	FACE	CERVEAU
57 %	8,8 %	10 %	9 %	13 %

DAUNORUBICINE : 3 mg/Kg/jour du 7° au 9° jour en injection intrapéritonéale

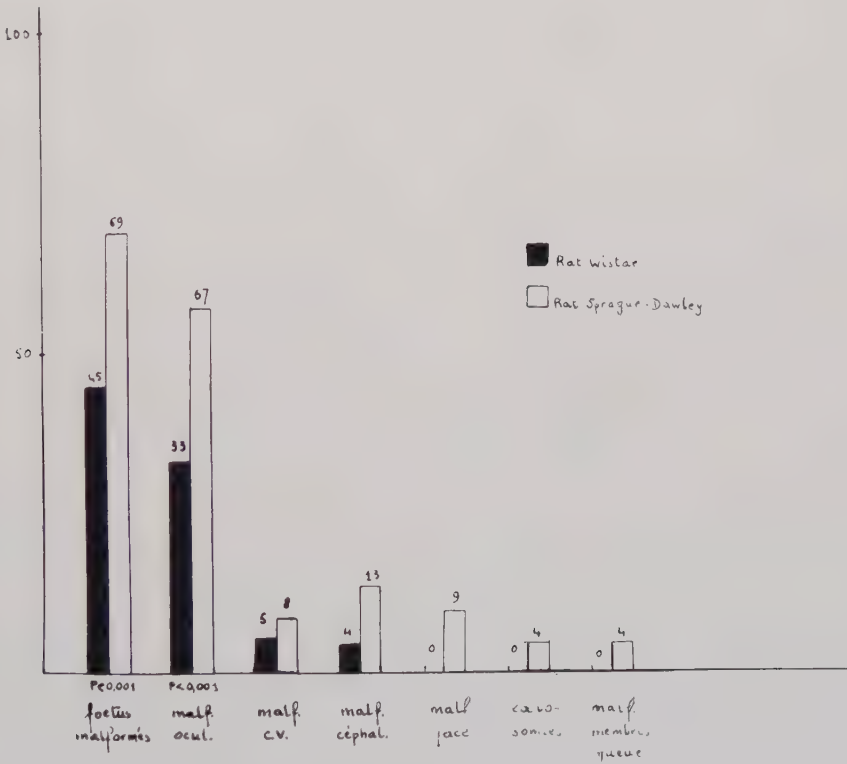


Tableau IV

Comparaison de l'action tératogène de la Daunorubicine sur deux souches différentes de rats (3 mg/Kg/jour en intrapéritonéale du 7° au 9° jour de la gestation).

On trouve des alopécies cutanées circonscrites mais également des encéphalocèles volumineuses, un craniorachischisis -Photo IV -, une anencéphalie.

Certaines malformations faciales sont particulières à cette série.

9 foetus présentent une macrostomie avec gueule asymétrique et pour l'un d'entre eux un bec de lièvre. -Photo V -

4 foetus ont une coelosomie.

Enfin des anomalies des pattes ont été constatées deux fois de même que des anomalies de la queue (1 anoure, une queue courte).

Un foetus présente un raccourcissement de la région dorsale, avec rétroflexion de la nuque, évoquant une iniencephalie. Le tube neural est ouvert avec craniorachischisis. L'oedème est considérable. -Photo VI - La Daunorubicine s'est donc montrée tératogène chez le Rat Sprague-Dawley comme chez le Rat Wistar. Cependant on note que l'action tératogène est nettement plus élevée chez le Rat Sprague-Dawley.

D'une part les foetus malformés sont plus nombreux ($S = 0,001$).

D'autre part les malformations nerveuses sont plus graves et l'on observe des malformations de la face, de l'abdomen, des membres et de la queue, que l'on ne voit pas chez le Rat Wistar.

Ceci confirme l'importance, déjà bien connue, de l'interférence des facteurs génétiques et des facteurs exogènes.

Description détaillée des malformations cardio-vasculaires et oculaires

Parmi les malformations observées certaines nous ont paru particulièrement caractéristiques et nous les avons étudiées plus en détail. Ce sont les malformations cardio-vasculaires et oculaires.

I - LES MALFORMATIONS CARDIAQUES

A - Technique

Pour chaque embryon recueilli, nous avons étudié au microscope binoculaire, après ouverture du thorax :

- l'état des gros vaisseaux de la base.
- la position et l'importance relative de l'aorte et de l'artère pulmonaire, la situation et le volume du canal artériel
- l'état des oreillettes, la situation et le volume des ventricules.

Lorsqu'il n'existait aucune anomalie macroscopique évidente nous avons ouvert le ventricule droit et vérifié l'intégrité de la cloison interventriculaire et l'état de la chambre de chasse du ventricule droit.

Dans certains cas d'anomalie cardio-vasculaire macroscopique le thorax a été prélevé en bloc et coupé en série.



Photo IV



Photo VI

Photo IV :

Fœtus de rat Sprague-Dawley présentant un craniorachischisis, et une coelosomie après traitement maternel par 3 mg/Kg/jour de Daunorubicine du 7^e au 9^e jour de la gestation.

Photo VI :

Fœtus de rat Sprague-Dawley présentant un œdème important, une iniencephalie, un craniorachischisis, une coelosomie et des anomalies des membres, après traitement maternel par 3 mg/Kg/jour de Daunorubicine du 7^e au 9^e jour de la gestation.



Photo V

Photo V :

Malformation faciale chez un rat Sprague-Dawley dont la mère a reçu 3 mg/Kg/jour de Daunorubicine du 7^e au 9^e jour de la gestation. Macrostomie associée à un bec de lièvre unilatéral.

B - Résultats

Nous avons pu étudier 27 malformations cardio-vasculaires dues à la Daunorubicine. (voir tableau V)

a) - Les communications interventriculaires sont les malformations les plus fréquentes (18/27). 9 fois cette anomalie est isolée.

b) - Les anomalies d'évolution de la 4^{ème} paire d'arcs aortiques sont les anomalies les plus spécifiques (8/27).

1°- 5 fois la crosse aortique s'est développée aux dépens du 4^{ème} arc aortique droit.

La crosse aortique passe à droite de l'axe aérodigestif. Le tronc de l'artère pulmonaire et le canal artériel suivent la crosse aortique dans son trajet à droite et sont sous-jacents à elle dans ces 5 cas.

Il existe les 5 fois un tronc artériel brachio-céphalique gauche donnant naissance à la carotide primitive gauche et à la sous-clavière gauche. Ce tronc croise transversalement par en avant trachée et oesophage qui sont situés, une fois dans un même plan, 4 autres fois en position normale et non modifiés par le passage de ce tronc artériel.

2°- Trois fois on constate la persistance de 2 arcs aortiques. Le 4^{ème} arc droit forme la crosse aortique et passe à droite de la trachée et de l'oesophage, le 6^{ème} arc gauche passe à gauche de la trachée et l'oesophage et donne naissance aux deux artères pulmonaires. Les deux arcs se réunissent à la face postérieure de l'oesophage pour donner l'aorte descendante.

Le 6^{ème} arc aortique gauche donne naissance à la sous-clavière gauche deux fois, à un tronc brachio-céphalique gauche une fois. Cet anneau artériel n'entraîne qu'une seule fois une compression et une striction oesophagienne et trachéale, dans les deux autres cas, trachée et oesophage sont normaux.

c) - La segmentation du bulbe artériel est anormale dans 8 cas sur 27. Deux types d'anomalies sont observés.

1°- L'aorte naît 6 fois en avant de l'artère pulmonaire. L'orifice aortique est en avant de l'orifice pulmonaire et la portion ascendante de la crosse aortique monte en avant du tronc de l'artère pulmonaire.

- Une fois l'aorte, née en avant de l'artère pulmonaire, passe à droite de l'axe aéro-digestif.

- Dans les cinq autres cas, la crosse aortique est en position normale.

Dans ce groupe d'anomalies, on observe en outre une communication interventriculaire, chez 4 foetus, et l'existence d'anomalies tricuspidiennes chez 3 d'entre eux.

Dans tous les cas l'aorte est irriguée par le ventricule gauche, l'artère pulmonaire par le ventricule droit.

2° - Chez deux foetus, la division anormale du bulbe artériel a entraîné la formation d'une aorte volumineuse et d'une artère pulmonaire de petit calibre avec hypoplasie de la voie droite. Dans un cas, ces deux vaisseaux communiquent largement sur un court segment sus-cardiaque.

d) - Un foetus présentait une oreillette droite très volumineuse avec oreillette gauche de petite taille.

e) - Enfin nous avons constaté à deux reprises, l'existence d'une sous-clavière droite rétro-oesophagienne, sans autres anomalies associées.

LES MALFORMATIONS CARDIO-VASCULAIRES CHEZ LE RAT

AUNORUBICINE N	.de:	Crosse	: Double:	: Cloisonnement	CIV:	Tronc brachio:	S/clavio:
DOSES	: malform.:	: aortiq.:	: arc	: anormal	:	: céphalique	: droite:
	: cardioV.:	: droite	: aortiq.:	:	:	: gauche	: aberrante:
WISTAR							
3 mg/Kg/j		1	1		1		
7° - 9° j		1	1				
		1					1
		1			1		1
				1	1		
	12			1	1		
				1	1		
				1			
							1
					1		
					1		
2 mg/Kg/j		1			1		1
7° - 14° j		1					1
	7				1		
					1		
					1		
				1	1		
							1
SPRAGUE-DAWLEY							
3 mg/Kg/j		1		1	1		1
7° - 18° j		1	1		1		
	8				1		
					1		
					1		
					1		
				1			
			Un foetus a une grosse oreillette droite et une oreillette gauche très petite				
TOTAL	27	8	3	8	18	5	2

TABLEAU V

II - LES MALFORMATIONS OCULAIRES

Ce sont les plus fréquemment rencontrées dans notre expérience chez le rat.

A - Technique

Les malformations oculaires sont facilement détectées à l'inspection des foetus.

Une dépression au niveau de la fente palpébrale témoigne d'une anophtalmie.

La microphthalmie est reconnue devant l'absence de saillie caractéristique du globe oculaire. (voir Photo III)

Nous avons systématiquement coupé les têtes de tous les embryons au rasoir et examiné ces coupes au microscope binoculaire sans coloration préalable.

Ceci a permis de vérifier l'existence d'anomalies suspectées à l'inspection des embryons.

Nous avons en outre réalisé l'étude histologique de l'appareil oculaire de 22 foetus.

Ces coupes en série, de 7 μ d'épaisseur et colorées à l'hématéine-éosine, intéressaient la face, la zone oculaire, le cerveau antérieur jusqu'à la région du chiasma optique.

B - Etude microscopique des malformations oculaires

Cette étude a été réalisée grâce à l'examen des coupes histologiques de 22 têtes de foetus ayant une malformation oculaire. On constate 10 anomalies oculaires unilatérales -Photo VII- et 12 anomalies bilatérales.

a) - Il existe une anophtalmie bilatérale chez 3 foetus, et unilatérale chez 3 autres foetus.

b) - Nous avons constaté l'existence d'anomalies rétiniennes chez 16 foetus. Ces anomalies rétiniennes sont variées dans leur aspect et leur degré. En règle l'oeil est situé en profondeur et de petite taille.

Les feuillets rétiniens sont contournés et plissés sur eux-mêmes. On note parfois une différenciation sensorielle des 2 feuillets rétiniens. Dans certains cas l'orifice pupillaire a une topographie aberrante ou n'est pas visible. -Photos VIII, IX, X-

Nous avons constaté chez 2 foetus, l'existence d'un rétinocèle -Photo XI-, et chez un autre foetus, une éversion rétinienne localisée.

Un foetus présente une fragmentation et des zones d'atrophie de la couche sensorielle de la rétine.



Photo VII

Photo VII :

Microphthalmie chez un rat Wistar après traitement maternel par 3 mg/Kg/jour de Daunorubicine du 7^e au 9^e jour de la gestation.

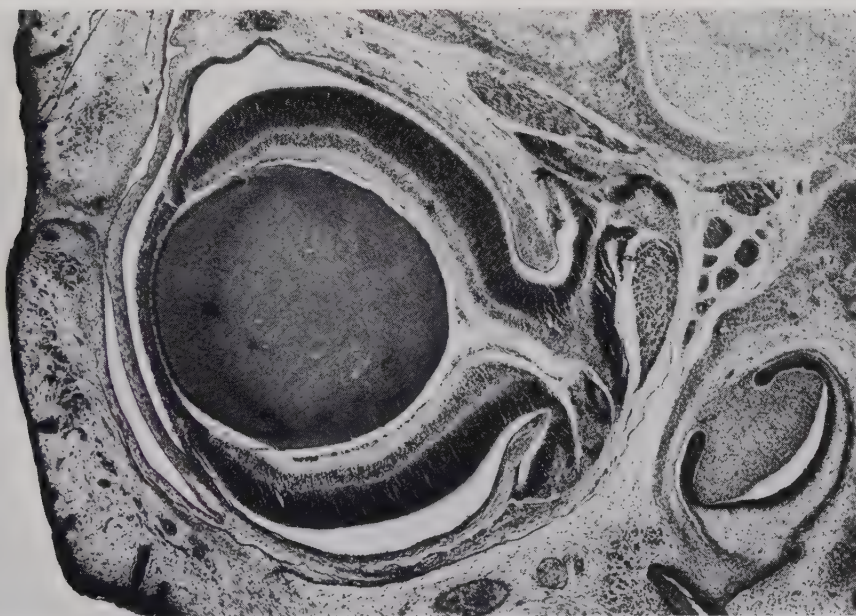


Photo XI

Photo XI :

Rétinocèle chez un rat Sprague-Dawley après traitement maternel par 3 mg/Kg/jour de Daunorubicine du 7^e au 9^e jour de la gestation.

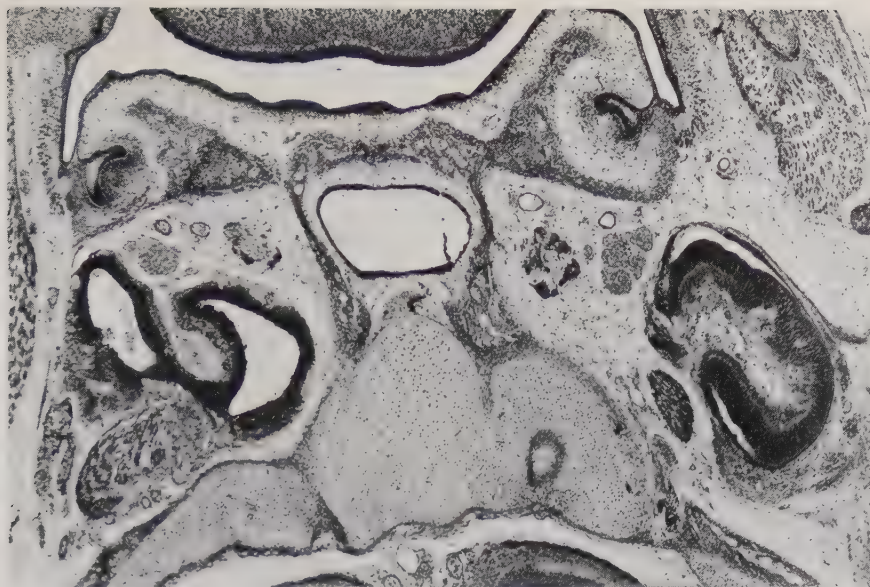


Photo VIII

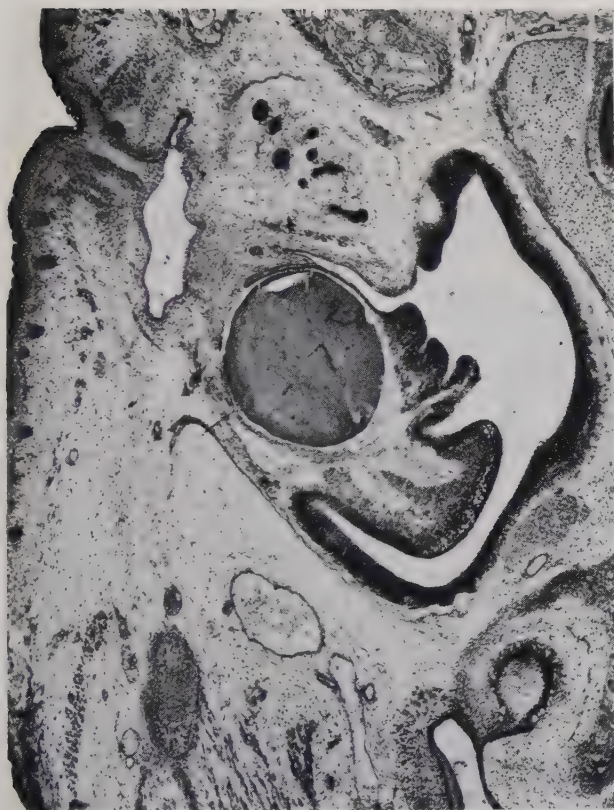


Photo IX



Photo X

Photos VIII, IX, X :

Malformations rétiennes avec rétines contournées plissées et profondes (Rattes traitées par 3 mg/Kg/jour de Daunorubicine du 7^e au 9^e jour de la gestation).

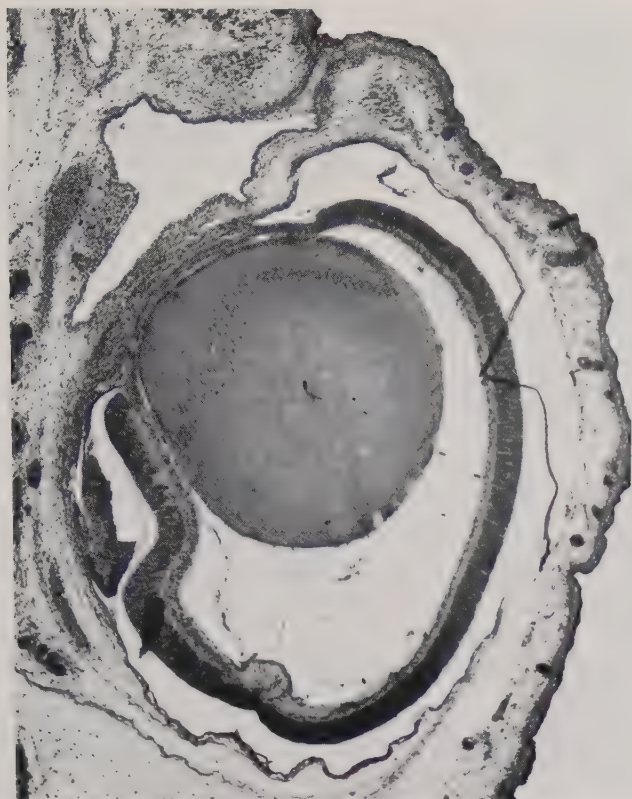


Photo XII

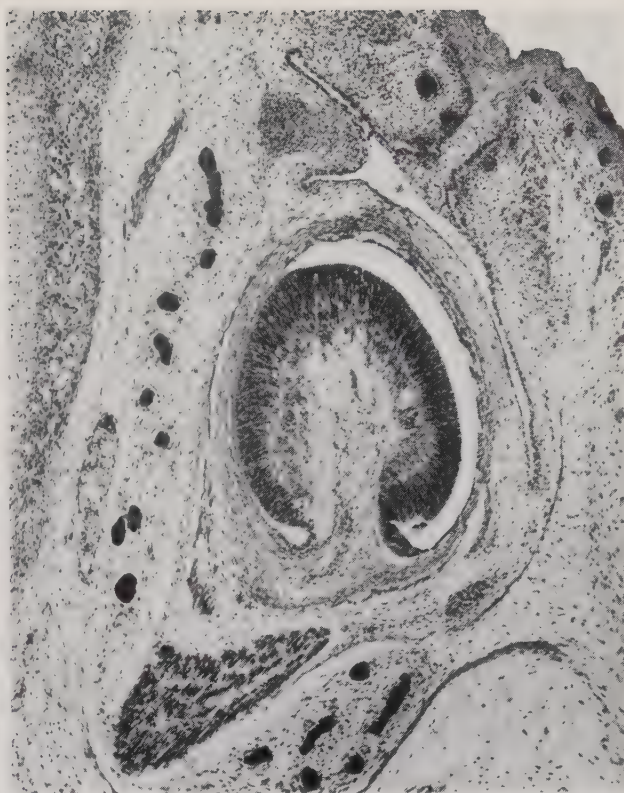


Photo XIII



Photo XIV

Photos XII, XIII, XIV :

Rétines malformées avec fibres optiques aberrantes chez des rats Sprague-Dawley après traitement maternel par 3 mg/Kg/jour de Daunorubicine du 7^e au 9^e jour de la gestation.

On note en outre, l'existence chez un fœtus d'un colobome avec cupule optique de petite taille au niveau de l'œil droit, et luxation du cristallin avec refoulement et déformation de la rétine au niveau de l'œil gauche.

Onze fœtus présentent une rétine contournée et plissée d'où naissent des fibres optiques aberrantes. Ces fibres optiques aberrantes, se réunissent le plus souvent pour former un nerf optique de taille inférieure à celle d'un nerf optique normal. -Photos XII, XIII, et XIV- Cependant chez cinq de ces fœtus, nous n'avons pas trouvé de nerf optique partant de la rétine anormale.

c) - Il faut enfin insister, sur les anomalies du cristallin observées dans cette étude.

Outre la luxation du cristallin, mentionnée ci-dessus, nous voudrions attirer l'attention sur deux points :

- d'une part le volume réduit du cristallin dans la majorité des cas de rétine anormale.
- d'autre part, l'absence complète de tout tissu cristallinien à l'examen histologique des coupes de six yeux. -Photos VIII et XIII- Cette absence de cristallin accompagne des anomalies rétinienne dont on ne peut dire qu'elles soient plus graves que celles présentées au niveau des yeux ayant des cristallins petits, voire subnormaux.

ETUDE CYTOGENETIQUE

L'action de la Daunorubicine sur l'ADN étant connue on pouvait se demander si les techniques cytogénétiques ne révéleraient pas des altérations chromosomiques. En fait des études in vivo et in vitro les mettent en évidence.

MARAL (1967) injecte de la Daunorubicine à la dose de 5 mg/Kg/jour en intrapéritonéale à des Souris porteuses de greffes de tumeur ascitique d'Ehrlich. Au bout de 4 heures, les chromosomes des cellules traitées sont altérés, épaissis, souvent agglutinés et même brisés. La Daunorubicine est donc un mitostatique qui altère la structure des chromosomes. De même DE GROUCHY et Coll. (1968), ont observé des remaniements chromosomiques sur culture in vitro de cellules médullaires et lymphocytes sanguins humains.

Enfin VIG et Coll. en 1968 ont décrit des anomalies chromosomiques sur culture de lymphocytes humains.

Ces auteurs trouvent des aberrations chromosomiques et chromatidiennes. Les échanges de chromatides sont plus fréquents que les fragments acentriques. L'addition au milieu de culture de Daunorubicine et d'Arginine entraîne une augmentation de l'indice mitotique et des aberrations chromosomiques.

La Daunorubicine a donc une action importante au niveau des chromosomes.

Ces altérations chromosomiques suggèrent une interprétation possible du mécanisme de la tératogénèse. Elles peuvent en effet bloquer les multiplications cellulaires. On conçoit que, dans un organisme embryonnaire, où les mitoses sont évidemment très nombreuses, un tel phénomène puisse entraîner des troubles plus ou moins profonds de l'organogénèse, c'est-à-dire des malformations.

Nous avons donc cherché à mettre en évidence des altérations chromosomiques chez les embryons dont les mères avaient reçu de la Daunorubicine.

L'étude de l'action chromosomique de la Daunorubicine a été réalisée par le Dr. I. EMERIT. Dans un premier temps l'action de la Daunorubicine sur les chromosomes in vitro a été confirmée sur cultures de cellules humaines. Puis des études in vivo ont été effectuées d'une part chez les rattes traitées par examen direct des cellules de la moelle osseuse, d'autre part chez les embryons.

Technique

1° TEST IN VITRO

Des cultures de sang humain ont été réalisées selon la micro-méthode de DE GROUCHY et Coll. La Daunorubicine a été ajoutée au milieu de culture simultanément au sang et à la phytohémagglutinine, sous forme de solution de Daunorubicine dans l'eau distillée à la dose de 0,25 mg/ml et stérilisée par passage sur filtre millipore. Des cultures de contrôle ont été faites avec des doses correspondantes d'eau distillée.

2° TEST IN VIVO

La Daunorubicine a été administrée du 7^{ème} au 14^{ème} jour de la gestation à des Rattes gravides par voie intrapéritonéale à la dose de 2 mg/Kg/jour. Les animaux sélectionnés pour l'étude chromosomique ont été sacrifiés deux heures après la dernière injection de Daunorubicine.

a) - L'étude chromosomique a été pratiquée chez les Rattes traitées et chez les Rattes gravides témoins par examen direct de la moelle osseuse après injection préliminaire de colchicine à la Patte.

b) - Deux techniques différentes ont été utilisées pour l'étude des chromosomes des embryons nés des Rattes traitées et des Rattes témoins.

- D'une part une méthode directe d'étude des mitoses a été employée. Après homogénéisation des tissus embryonnaires la suspension cellulaires obtenue a été techniquée selon les méthodes habituelles pour les cultures de sang, sauf en ce qui concerne le choc hypotonique.

- D'autre part des cultures de tissus foetaux ont été pratiquées comparativement aux méthodes directes.

Les explants de tissus embryonnaires sont cultivés sur milieu de Eagle additionné de 10 % de sérum de veau pendant 10 à 20 Jours. Toutes préparations ont été colorées au Giemsa, les mitoses apparemment complètes ont été photographiées et les chromosomes étudiés sur des photos de 9 X 12 cm.

Le caryotype fut établi en cas d'anomalie douteuse.

Résultats

1° TEST IN VITRO

Une seule culture a été pratiquée et a permis de confirmer les résultats établis par MARAL (1967) et DE GROUCHY (1968).

Le pourcentage de cellules anormales est très élevé 75 %. On constate la présence de très importants réarrangements chromosomiques, secondaires à des cassures chromatidiennes aboutissant à des figures tri et quadri radiales.

2° TEST IN VIVO

A - Examen direct de moelle osseuse de Rattes gravides traitées et témoins

La fréquence des cellules anormales dans les 325 cellules de moelle osseuse de Rattes traitées par 2 mg/Kg/jour de Daunorubicine du 7^{ème} au 14^{ème} jour de la gestation était de 31 %.

L'étude de moelle osseuse d'animaux témoins a permis de noter la présence de 7,5 % d'anomalies chromosomiques dans les 172 cellules étudiées. La différence est hautement significative (0,001).

Les anomalies observées dans les cellules médullaires sont de 4 ordres.

1°- On constate l'existence de cassures chromatidiennes dans 9 % des cellules d'embryons nés de mères traitées alors que leur taux n'est que de 2,3 % chez les témoins. La différence est hautement significative. On note également la présence de lacunes chromatidiennes.

2°- Il existe des aberrations chromosomiques dans 6,8 % des cellules médullaires de Rattes traitées.

Il s'agit :

- de fragments chromosomiques acentriques (4,3 %)
- de chromosomes dicentriques (0,62 %)
- de chromosomes en anneaux (0,92 %)
- enfin d'autres anomalies chromosomiques (0,92 %)

Aucune anomalie de ce type n'a été constatée chez les animaux témoins.

3°- On note la présence de cellules polyploïdes chez les animaux traités : 0,62 %.

Alors que ce type de cellules n'est pas retrouvé chez les témoins.

4°- Enfin on constate la présence de chromosomes supplémentaires dans 1,2 % des cellules étudiées chez les animaux traités. Cette anomalie n'est pas rencontrée chez les témoins.

B - Etude directe des mitoses dans les tissus embryonnaires

L'examen des cellules d'embryons homogénéisés a montré une augmentation de fréquence des anomalies de structure des chromosomes. On constate en effet des anomalies dans 26 % des 305 cellules examinées provenant d'embryons dont les mères ont été traitées par la Daunorubicine.

Chez les embryons témoins nés de mères n'ayant pas reçu de Daunorubicine 12 % des 201 cellules examinées présentent des anomalies.

Ce sont avant tout des anomalies chromatidiennes. Les lacunes sont les anomalies les plus fréquemment retrouvées (16,7 %). Ce type d'anomalie est noté dans 10 % des cellules d'embryons témoins. Des cassures chromatidiennes sont constatées dans 8,5 % des cellules d'embryons traités, et seulement dans 2 % des cellules d'embryons témoins. On n'a pas noté d'échange de chromatides. La seule aberration chromosomique constatée est la présence de fragments acentriques dans quelques cellules d'embryons nés de mères traitées (0,66 %) alors que ce fait n'est pas noté chez les témoins.

Aucune cellule n'était polyploïde, ni ne présentait de chromosomes surnuméraires.

C - Culture de tissus embryonnaires à court terme

Les résultats sont similaires à ceux de l'examen direct.

109 cellules d'embryons nés de mères traitées ont été examinés. 24 % d'entre elles présentaient des anomalies chromosomiques. De telles anomalies sont notées dans 15,5 % des 77 métaphases de cellules d'embryons témoins.

Il existe des aberrations chromatidiennes dans 20 % des cellules d'embryons traités. Les cellules d'embryons témoins présentent une fréquence élevée d'anomalies de ce type : 15,5 %. Mais il faut souligner que celles-ci sont représentées essentiellement par des lacunes (11,6 % alors qu'il y en a 9 % dans les cellules d'embryons traités). Or la signification de ces cellules est peut-être discutable. Par contre les cassures chromatidiennes sont nettement plus fréquentes chez les traités (11 %) que chez les témoins (3 %).

Enfin on constate la présence de fragments chromosomiques acentriques dans 2,75 % des cellules étudiées à partir d'embryons nés de mères traitées. Ce type d'anomalie n'est pas rencontré chez les témoins. Des cellules d'embryons traités présentent une polyploïdie (0,92 %), anomalie qui n'est pas constatée chez les témoins.

Discussion

La Daunorubicine entraîne donc des anomalies chromosomiques non seulement in vitro, mais également in vivo.

Les anomalies sont constatées dans les cellules médullaires de Rattes traitées par cet antimitotique, de même que dans les cellules des tissus des embryons nés de mères traitées par la Daunorubicine.

La signification de ces constatations mérite d'être discutée.

Dans le cas de la Daunorubicine il est probable que les altérations chromosomiques sont le reflet de l'action de cette substance sur l'ADN et que ces phénomènes étroitement liés sont à l'origine de la tératogénèse.

Cependant, au cours d'une étude sur les corrélations possibles de la tératogénèse et des altérations chromosomiques, nous avons trouvé des anomalies semblables à celles que nous venons de décrire avec deux autres tératogènes : le Thalidomide et le Bleu Trypan (ROUX, EMERIT, TAILLEMITE, 1969, 1971).

Les altérations chromosomiques sont-elles, dans ce cas, la cause directe des malformations ou ne sont-elles que le témoin de perturbations cellulaires plus générales ? Des études concernant d'autres tératogènes permettront peut-être de retrouver des résultats semblables.

On serait alors amené à se demander si les anomalies chromosomiques, quelle qu'en soient la cause et la conséquence directes, ne pourraient pas être considérées comme un témoin de l'action tératogène.

ETUDE DE TROIS OBSERVATIONS DE FEMMES

TRAITEES PAR DES ANTI-MITOTIQUES PENDANT LA GESTATION

OBSERVATION N° 1

Il s'agit d'une femme âgée de 32 ans suivie depuis 1954 pour maladie de Hodgkin. Une radiothérapie a été commencée en 1964. En 1965 cette femme a eu une grossesse normale (sans traitement semble-t-il), qui s'est terminée par la naissance à terme d'une fille normale, vivante et pesant 3.050 g. En 1967 est entrepris un nouveau traitement. A cette date la maladie est diffuse et grave. Il existe une polyadénopathie considérable, cervicale droite, axillaire bilatérale, inguinale droite ; une splénomégalie s'y associe. Le traitement comporte dans un premier temps l'administration de Côtancyl et de Caryolysine, la malade reçoit une dose totale de 36 mg de Caryolysine. Ce traitement d'attaque est suivi d'une thérapeutique d'entretien débutée en Janvier 1967, qui comporte l'injection hebdomadaire de 10 mg de Vinblastine. Le résultat de ce traitement est favorable sur le plan clinique et hématologique.

Les dernières règles normales sont constatées le 28 Avril 1968. La chimiothérapie par la Vinblastine est régulièrement poursuivie au même rythme jusqu'à la date de l'avortement thérapeutique qui est pratiqué par voie haute le 31 Juillet 1968, au 3 ème mois de la gestation.

Il s'agit d'une grossesse gémellaire, bichoriale, biamniotique. L'examen macroscopique des 2 jumeaux est normal. L'étude histologique des organes principaux n'a pas montré d'anomalies. L'étude du caryotype des tissus foetaux faite sur culture primaire de rein et de peau par le Dr. BOUE ne permet pas de conclusion indiscutable.

En effet sur 32 cellules analysées, 27 cellules sont normales. 5 cellules ont des anomalies chromosomiques :

1) deux cellules provenant de culture de peau du jumeau (1) présentent des cassures chromatidiennes.

- 3 cassures franches dans une cellule
- 2 cassures chromatidiennes franches dans l'autre.

2) trois cellules dans la culture de rein du jumeau (2) sont anormales :

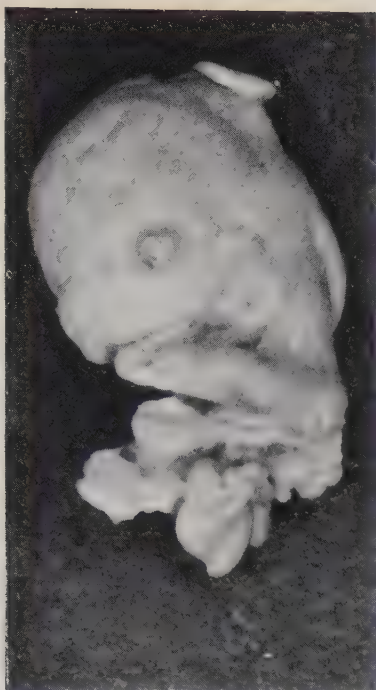


Photo XV



Photo XVI

Malformation d'un fœtus humain de 2 mois et demi après traitement maternel par la 6-mercaptopurine. Le tube neural reste ouvert avec éversion des bords.

Photo XV : aspect extérieur du fœtus.

Photo XVI : coupe histologique montrant l'ouverture du tube neural (observation n° 2).

- l'une avec endomitose
- l'autre avec tétraploïdie
- une avec un chromosome minute.

Ces anomalies sont peu nombreuses mais suffisamment importantes pour témoigner d'une agression au niveau des chromosomes foetaux.

Conclusion

Un traitement par la Vinblastine (10 mg/semaine) administré pendant les premières semaines d'une grossesse gémellaire n'a pas entraîné d'anomalies macroscopiques ni histologiques chez les deux foetus. On constate des anomalies chromosomiques qui semblent bien témoigner d'une certaine cytotoxicité dont les éventuelles conséquences ultérieures ne peuvent pas être évaluées.

OBSERVATION N° 2

Cette observation concerne une femme de 32 ans atteinte de leucémie myéloïde chronique. Depuis 1965 le traitement comprend des corticoïdes et de la 6-mercaptopurine. Les dernières règles normales sont constatées le 19 septembre 1968 alors que la femme reçoit régulièrement son traitement qui est poursuivi jusqu'à l'avortement thérapeutique. Celui-ci est pratiqué par voie haute le 19 Novembre 1968, au terme de 7 semaines. Le foetus recueilli présente une malformation évidente du système nerveux central -Photos XV et XVI- Il existe en effet une anomalie localisée de fermeture du tube neural dans la région du mésencéphale. Le tube neural reste ouvert à ce niveau au stade de gouttière. Il y a éversion des bords réalisant un aspect en chignon. Le reste de l'examen macroscopique et microscopique du foetus n'a pas montré d'anomalie de l'organogénèse. L'échec de la culture de tissus foetaux n'a pas permis l'étude des chromosomes foetaux.

Conclusion

Sous traitement par Corticoïdes et 6-mercaptopurine à dose non précisée s'est développé un foetus atteint d'une malformation cérébrale majeure. L'action tératogène du Purinethol apparaît probable. Un éventuel rôle favorisant du traitement corticoïde associé ne peut être discuté.

OBSERVATION N° 3

Elle concerne une femme âgée de 21 ans sans antécédent pathologique notable, dont les dernières règles normales ont lieu le 5 Mars

1969. Début juin 1969 est porté le diagnostic de leucémie aigüe lymphoblastique. Le traitement de cette hémopathie débute le 4 Juin 1969 au terme de 2 mois 1/2. La malade recevra alors des injections intraveineuses de Daunorubicine (300 mg en tout) et de Vinblastine (6 mg en tout).

En raison de ce traitement anti-mitotique, un avortement thérapeutique est décidé et pratiqué au terme de 4 mois 1/2 (18 Juillet 1969).

Le foetus a un aspect macroscopique normal, sans anomalie de l'organogénèse, ce qui n'est pas surprenant étant donné le début tardif du traitement.

Une culture de tissus foetaux a été pratiquée et analysée par le Dr. EMERIT. 187 cellules ont été étudiées. 76 cellules sont anormales et 23 comportent plus d'une anomalies. Les anomalies rencontrées sont variées :

- anomalies <u>chromatidiennes</u>	
- constriction isolées	19 cellules
- cassures	20 "
- cassures et constriction	9 "
- échange de chromatides	1 "
- anomalies <u>chromosomiques</u>	
- endoreduplication sélective	1 cellule
- fragments acentriques	2 cellules
- dicentriques	2 "
- marqueurs	4 "
- <u>endomitoses</u>	2 cellules
- <u>polyploïdies</u>	14 cellules

dont 8 ont des anomalies de structure :

- 2 constriction
- 3 cassures isochromatidiennes
- 2 fragments
- 1 fragment + dicentrique

Conclusion

Un traitement par de la Daunorubicine et de la Vinblastine à partir du 3 ème mois de la gestation n'a pas entraîné d'anomalie foetale. L'étude chromosomique montre des anomalies indiscutables. Là encore on ne peut que faire des réserves sur les éventuelles conséquences à longterme de ces anomalies.

En dehors des données nouvelles que nous apportons nous avons essayé de préciser à travers la littérature le retentissement sur le développement embryo-foetal des divers produits anti-mitotiques, utilisés dans le traitement des hémopathies et des affections cancéreuses. Il nous a semblé intéressant d'étudier successivement pour chaque groupe :

1° - Le mécanisme d'action qui permet précisément leur classification.

2° - L'action cytogénétique, les modifications ou les aberrations qu'ils induisent pouvant perturber le développement foetal ou être responsable de malformations.

3° - L'action tératogène chez l'animal et avant tout chez les mammifères, notamment le Rat, car il s'agit là d'un modèle expérimental permettant d'apprécier leur retentissement sur un organisme en croissance.

4° - Enfin nous avons relevé les observations publiées dans la littérature qui signalaient l'administration d'un anti-mitotique pendant la grossesse, en nous attachant à la date de prescription pendant la grossesse, à la dose de produit utilisée et à l'état du fœtus.

I . LES AGENTS ALKYLANTS

Les agents alkylants sont des produits dérivés de l'ypérite au soufre. L'ypérite, la première moutarde connue, fut utilisée comme gaz de combat. On peut décrire 3 types d'agents alkylants :

1° - Les moutardes azotées, qui comprennent :

- la caryolysine (methyl bis chloréthylamine), ou "nitrogen mustard" des auteurs anglosaxons.
- le chlorambucil ou chloraminophène
- le cyclophosphamide ou endoxan.

2° - Les éthylènes-imines, qui comprennent :

- le triéthylène mélamine (T.E.M.)
- le thiotepa
- le triaziquone (trénimon)

3° - Les esters sulfoniques, tels que :

- le busulfan ou misulban

A - MECANISME D'ACTION

Bien qu'ils aient une structure différente, les agents alkylants ont un mécanisme d'action similaire.

Les moutardes azotées subissent une modification structurale faisant apparaître un radical éthylène-imine par cyclisation. Les éthylène-imines possèdent déjà ce radical qui est très réactif. L'action des agents alkylants se fait en plusieurs points.

- . Ils se fixent sur les protéines, notamment sur les groupements carboxyles et sulphydriles.
- . Ils se fixent surtout au niveau de l'ADN. La réaction se fait avec les groupements phosphoryls de l'ADN, mais également et à un moindre degré avec l'azote des bases puriques et pyrimidiques.

Les composés diactifs se fixent sur des radicaux portés par chacune des 2 chaînes d'ADN. Ces composés réalisent ainsi des ponts entre les 2 chaînes d'ADN, ce qui entraîne une inactivation in vivo et une dénaturation in vitro de l'ADN (STACEY 1958).

L'ADN est ainsi fortement altéré par l'alkylation.

Les liaisons s'opposent aux replications et perturbent la transmission du message héréditaire dont l'ADN est porteur.

Les agents alkylants sont donc avant tout des agents anti-ADN. Leur intervention au niveau nucléaire explique leur effet cytotoxique et anti-mitotique (WHEELER 1962).

B - ACTION SUR LES CHROMOSOMES

De nombreux agents alkylants ont été étudiés pour préciser leur action au niveau des chromosomes.

a) - La moutarde azotée entraîne l'apparition d'aberrations chromosomiques en culture de tissu humain (WHEELER 1962).

Une étude a été faite in vivo par SCHMID et Coll. (1968) avec du cyclophosphamide en culture de sang de femmes ayant des tumeurs génitales et traitées par le cyclophosphamide. Ils observent des anomalies chromosomiques dans 13,4 % des cellules étudiées. Il s'agit surtout de fragments acentriques, de dicentriques, de chromosomes en anneaux et de chromosomes inclassables et atypiques. On trouve 10 fois plus de cassures chromatidiennes dans les cultures de lymphocytes de femmes traitées que dans celles de femmes porteuses de carcinomes mais non traitées.

Par contre HAMPEL (1968), utilisant du cyclophosphamide, ne trouve aucune anomalie chromosomique tant in vivo qu'in vitro.

WHEELER (1962) signale l'apparition d'aberrations chromosomiques chez *Vicia Faba* lorsqu'une éthylène-imine est ajoutée au milieu de culture. La trétabine, le triaziquone et le thiotépa ont été testés par HAMPEL (1968). Ces trois produits entraînent de multiples lésions structurales : cassures chromatidiennes et isochromatidiennes, fragments acentriques et figures d'échange. Ces anomalies sont constatées aussi bien in vivo qu'in vitro.

Le Myleran entraîne également des anomalies chromosomiques. Il existe un grand nombre de cassures chromosomiques et une diminution de longueur des chromosomes dans les cellules de *Vicia Faba* lorsque le Myleran est ajouté au milieu de culture, (MOUTSCHEN-DAHMEN 1959).

De même RICHMOND (1969) constate l'apparition d'aberrations chromosomiques dans 25 % des cellules (constrictions, cassures chromatidiennes ou chromosomiques) lorsque le Myleran, 20 µg/ml, est ajouté au milieu de culture de lymphocytes humains.

Des concentrations croissantes de Myleran entraînent une augmentation parallèle de la fréquence des aberrations chromosomiques, et une réduction de l'indice mitotique.

b) - Différentes études cytogénétiques ont été réalisées chez des embryons nés d'animaux traités.

En administrant du chlorambucil à des Rattes SOUKUP et Coll. (1967) constatent des anomalies chromosomiques dans 10 % des métaphases de cellules d'embryons nés de mères traitées. Après traitement par la moutarde à l'azote, les auteurs constatent des anomalies dans 17 % des cellules embryonnaires.

En utilisant le cyclophosphamide chez le Rat, TAMBOISE et Coll. (1964), constatent également des anomalies chromosomiques dans 40 % des cellules foetales étudiées. Il existe des aberrations chromatidiennes, mais surtout des aberrations chromosomiques. Délétions, translocations sont de loin les aspects les plus fréquemment rencontrés, à côté d'agglutinations, de fragmentations et de tétraploïdies.

On peut, semble-t-il, conclure à une action nette des agents alkylants sur les chromosomes non seulement in vitro mais aussi in vivo tant chez les individus traités que chez les embryons nés de mères traitées.

C - TERATOGENESE ANIMALE

L'activité tératogène des agents alkylants a été largement démontrée chez la Souris et le Rat. Dans une étude générale sur l'action tératogène des alkylants, MURPHY (1958) souligne que tous les produits sont tératogènes chez le Rat. Ils entraînent en règle le même type de malformation.

1° - La moutarde azotée a été injectée à des rattes Sprague-Dawley à la dose de 1 mg/Kg par voie sous-cutanée (HASKIN 1948). On constate des malformations à type d'encéphalocèles, des fentes palatines, des anomalies squelettiques variées.

Le même type de malformations est retrouvé par MURPHY (1958) avec des doses de 0,5 mg/Kg/jour de moutarde azotée administrée du 11^{ème} au 16^{ème} jour, à des Rattes gravides.

L'action tératogène de la moutarde azotée a été décrite par DANFORTH et Coll. (1954) chez la Souris.

2° - Le chlorambucil est le corps le plus tératogène de ce groupe chez le Rat. Il est proche de ce point de vue des rayons X. Le maximum d'effet est noté après injection unique intrapéritonéale au 12^{ème} jour de 9 ou 10 mg/Kg de chlorambucil. On observe des malformations complexes chez 90 % des foetus survivants au 21^{ème} jour : encéphalocèle, oedème, syndactylie, raccourcissement des membres, fentes palatines, anomalies de la queue.

Les autres agents alkylants en injection unique au 12^{ème} jour entraînent des anomalies du même ordre que le chlorambucil, cependant quelques divergences existent pour chaque substance.

3° - Toutes ces anomalies sont retrouvées, sauf les fentes palatines, avec le cyclophosphamide (7 à 10 mg/Kg) chez le Rat. Le cyclophosphamide est en outre tératogène chez la Souris (GIBSON 1968).

Une injection de 5 ou 10 mg/Kg au 9 ème ou 10 ème jour de la gestation entraîne une mortalité foetale importante mais pas de malformation. Par contre l'injection intrapéritonéale de 20 mg/Kg de cyclophosphamide faite entre le 9 ème et le 14 ème jour de la gestation chez des Souris, entraîne une augmentation des résorptions foetales, mais surtout fait apparaître des malformations graves (anencéphalies, hydrocéphalies), des anomalies squelettiques ou oculaires.

4° - Le triéthylène mélanine aux doses de 0,3 à 0,6 mg/Kg

5° - Le thiotépa aux doses de 3 à 5 mg/Kg, entraîne l'ensemble du syndrome malformatif, sauf les fentes palatines, en injection le 12 ème jour chez le Rat.

6° - Le busulfan, à la dose de 18 à 34 mg/Kg entraîne des anomalies des doigts, de la queue et des fentes palatines chez le Rat. BOLLAG (1954) et GAULIER (1968) constatent après injection unique de 10 mg/Kg de Busulfan entre le 14 ème et le 16 ème jour, l'absence de cellules germinales chez le Rat. Il s'en suit une stérilité chez la femelle et le mâle.

D - ETUDE DE L'ACTION SUR LE FOETUS HUMAIN

Les agents alkylants sont très utilisés en thérapeutique humaine, notamment en hématologie. Nous avons relevé un certain nombre d'observations de femmes ayant reçu des agents alkylants pendant leur grossesse.

1° - SOKAL (1960) rapporte trois observations de femmes ayant reçu de la moutarde azotée (Caryolysine) pendant leur grossesse. L'une est traitée par 0,6 mg/Kg pendant le 4 ème mois et donne naissance à un enfant qui est normal à l'âge de 8 ans.

Une autre reçoit 0,4 mg/Kg au 4 ème mois et au 5 ème mois, et donne naissance à un enfant qui est normal à 7 ans 1/2.

Enfin une troisième reçoit 0,10 mg/Kg pendant le 1 er mois et le 9 ème mois de sa grossesse, l'enfant est normal à 9 ans 1/2.

SMITH (1958) rapporte une observation de femme ayant été traitée par de la moutarde azotée avant le début de la gestation (4 injections de 0,4 mg/Kg) et recevant une nouvelle dose de 0,4 mg/Kg au 3 ème mois de grossesse. Au terme de 5 mois survient un avortement spontané. L'enfant survit 2 jours et ne présente semble-t-il aucune malformation.

2° - SMITH et Coll. (1958), rapportent deux observations de femmes traitées par le chlorambucil pendant leur grossesse. L'une reçoit 378 mg de chlorambucil en 22 jours au cours du 7 ème mois. Elle donne naissance à un enfant qui est normal à l'âge de 10 mois.

L'autre reçoit du chlorambucil (10 mg/jour) pendant 2 semaines au cours du 4^{ème} mois, puis une dose de 20 mg de moutarde à l'azote, puis à nouveau du chlorambucil (10 mg/jour) pendant le 5^{ème} mois. Enfin elle reçoit quatre doses de 20 mg de moutarde à l'azote au 7^{ème} et au 8^{ème} mois. L'enfant est normal à deux mois.

Une observation prête à discussion. SHOTTON et Coll. (1963) rapportent l'histoire d'une femme traitée depuis 3 ans par du chlorambucil et qui a reçu 6 mg/jour de cette substance pendant le 1^{er} mois de sa grossesse. Un avortement thérapeutique fait au terme du 4^{ème} mois a permis d'examiner le fœtus. Son aspect extérieur est normal, mais on constate l'existence d'une agénésie rénale et urétérale gauche.

Le rôle du chlorambucil qui donne de façon préférentielle ce type de malformation chez le Rat (MONIE 1961) est discuté. Le rapport de cause à effet ne peut être affirmé, malgré la rareté de cette malformation dans la population générale (1/700).

3° - GREENBERG et Coll. (1964) rapportent un cas d'enfant présentant des malformations congénitales probablement en rapport avec le cyclophosphamide. La mère reçoit du cyclophosphamide par voie orale (100 mg/jour pendant 8 mois) et intraveineuse à la 7^{ème} et 8^{ème} semaine (1810 mg en 6 jours). Elle donne naissance à un garçon de faible poids et polymalformé. Les pieds et les mains sont anormales, il existe une hernie inguinale bilatérale, et des anomalies du palais. L'enfant survit. L'étude de son caryotype n'a pas montré d'anomalies. Le rôle du cyclophosphamide dans la survenue de ces malformations semble pouvoir être retenu.

4° - SMITH et Coll. (1958), rapportent une observation personnelle de femme traitée par le triéthylène mélamine. Cette femme reçoit 16 mg de triéthylène mélamine en 8 jours pendant le 1^{er} trimestre de sa grossesse. L'enfant né à terme est normal. Dans le même travail, ils citent une observation de femme ayant eu un avortement spontané après avoir reçu 60 mg de triéthylène mélamine au cours des 3 premiers mois de sa grossesse, puis 1 mg/jour de triéthylène mélamine pendant le 4^{ème} mois. Il fut impossible de préciser l'état du fœtus. Les auteurs signalent en outre la naissance d'un enfant normal, au terme d'une grossesse au cours de laquelle la mère a reçu 70 mg de triéthylène mélamine pendant le 3^{ème} trimestre.

5° - De nombreux travaux concernent l'action éventuelle du Busulfan sur le fœtus.

DENNIS (1965) rapporte une observation de femme, atteinte de leucémie myéloïde chronique, traitée au cours du 1^{er} trimestre de la gestation

par du Busulfan (6 mg/66 jours). Elle donne naissance à un enfant normal.

De même SOKAL (1960) cite une observation de femme traitée pour leucémie myéloïde chronique par du Busulfan. Elle reçut 6 mg/jour pendant le 7^{ème} mois, puis 4 mg/jour pendant les 3 premières semaines du 9^{ème} mois. L'enfant est normal et vivant à l'âge de 2 ans.

Plus intéressante est l'observation de REYES et Coll. (1961). Il s'agit d'une femme ayant conçu son enfant alors qu'une thérapeutique par le Busulfan venait d'être décidée. Cette femme recevra 4 mg/jour pendant le 1^{er} mois, puis 6 mg/jour durant le 2^{ème} mois, enfin 2 mg/jour pendant les 15 premiers jours du 3^{ème} mois. Elle donne naissance à un garçon normal, pesant 2.300 g dont le développement staturopondéral débutera normalement. L'enfant meurt à l'âge d'un mois d'une staphylocoqueémie généralisée.

IZUMI (1956) rapporte la naissance d'un enfant de faible poids de naissance, et normal à l'âge de 3 ans. Sa mère avait reçu, en raison d'une leucémie myéloïde chronique, un traitement de Busulfan du début à la fin de la gestation (de 0,5 à 4 mg/jour).

De même SHERMAN et Coll. (1958) ont suivi une femme atteinte de leucémie myéloïde chronique et traitée par du Busulfan pendant le 2^{ème} et le 3^{ème} mois de sa grossesse. Elle reçut 4 à 6 mg/jour pendant 5 semaines. Enfin au 8^{ème} mois le traitement fut repris aux mêmes doses pendant 15 jours. L'enfant pesait 2.440 g à la naissance. Il est normal à l'âge de 1 an.

Dans une revue générale DEREK et Coll. (1966) rapportent deux cas personnels de femmes ayant reçu du Busulfan au début de leur grossesse et ayant donné naissance à des enfants normaux.

La première est âgée de 28 ans et souffre de leucémie myéloïde chronique. Le traitement a débuté avant la conception et sera poursuivi jusqu'au terme de un mois et demi à des doses variables allant jusqu'à 12 mg/jour. Le Busulfan est repris pendant les deux derniers mois de la gestation. Elle donne naissance à une fille normale pesant 3.200 g. La deuxième malade souffre de thrombocythémie idiopathique. Elle recevra 4 mg/jour de Busulfan pendant le 1^{er} mois de sa grossesse, et donnera naissance à un garçon normal pesant 3.210 g.

DEREK (1966) rapporte en outre cinq observations nouvelles. Pour quatre de ces 5 femmes le traitement est entrepris avant le début de la grossesse. Les doses de Busulfan vont de 1 à 12 mg/jour. La durée du traitement au cours du premier trimestre sera de 3 jours pour une femme, de 90 jours pour deux d'entre elles, de 46 et 65 jours pour les deux dernières.

Les enfants sont normaux à la naissance. L'enfant de la femme traitée pendant 3 jours présente une sténose du pylore mais est normal par ailleurs. Le rôle du Busulfan dans l'apparition de cette malformation ne semble pas pouvoir être retenu.

Seuls DIAMOND et Coll. (1960) ont observé des malformations congénitales chez un enfant né de mère traitée par le Busulfan. La malade était atteinte de leucémie myéloïde chronique. Elle a présenté une première grossesse normale pendant laquelle elle a reçu de la 6-mercaptopurine. L'enfant était normal à la naissance. Au cours d'une deuxième grossesse elle reçoit du Busulfan et de la mercaptopurine en alternance. L'enfant de petit poids de naissance, présentait des malformations congénitales multiples (fente palatine, anophtalmie bilatérale, hypoplasie thyroïdienne et ovarienne), et mourait à 2 mois. On constata en outre des anomalies nucléaires dans les cellules de nombreux tissus.

Le rôle du Busulfan dans la survenue de ces malformations a été discuté, notamment par SHERMAN (1960) pour qui la preuve de l'action du produit n'est pas évidente.

En dehors de l'observation de DIAMOND et Coll. (1960) le Busulfan ne semble pas avoir d'action tératogène sur le fœtus humain.

II . LES ANTI METABOLITES

Les anti métabolites sont des analogues structuraux de substances normalement présentes dans l'organisme ou nécessaires à sa physiologie.

Ces analogues structuraux prennent la place de la substance en cause. Tantôt, ils réaliseront un tableau de carence en cette substance, tantôt, en se substituant à elle ils bloqueront les mécanismes biologiques où elle intervient.

On distingue les analogues des bases puriques et pyrimidiques qui entravent la replication et la synthèse de l'ADN et des divers ARN; il peut s'agir encore d'inhibiteurs de l'acide folique, enfin d'analogues structuraux d'acides aminés.

1° LES ANTIPURINES

Ce sont des analogues des bases puriques qui participent à la synthèse de novo des nucléotides.

Il s'agit d'analogues de la guanine, de l'hypoxanthine, de la xanthine, ou enfin d'analogues structuraux de l'adénine.

L'analogue de l'adénine le plus connu est la 6-mercaptopurine ou purinéthol.

A - MECANISME D'ACTION

Les bases puriques entrent dans la constitution des transporteurs d'énergie (ATP) mais surtout, des acides nucléiques tant de l'ADN que de l'ARN. on conçoit la gravité de la substitution aux bases puriques normales des analogues structuraux qui vont venir perturber la physiologie normale de ces structures cellulaires nobles.

Les mécanismes d'action ont surtout été étudiés avec la 6-mercaptopurine. La 6-mercaptopurine serait incorporée dans un nucléoside et empêcherait la transformation de l'acide inosique résultant en acide adénylique (SALSER 1960).

Cet antipurique interviendrait en outre à un stade très précoce de la synthèse de novo, en empêchant la transformation du 5-phosphoribosylpyrophosphate en phosphoribosylamine (LEPAGE et JONES 1961). La 6-mercaptopurine agit comme un inhibiteur de synthèse de riboside. Elle doit donc avoir une action sur les synthèses d'ADN et d'ARN.

B - ACTION SUR LES CHROMOSOMES

Le retentissement sur les chromosomes des antipurines a été étudié pour l'azathioprine ou imuran.

EBERLE et Coll. (1958) ont réalisé une étude chromosomique sur le sang périphérique de sujets atteints d'hépatite chronique, de lupus érythémateux disséminé, de glomérulo-néphrite chronique. Les cultures cellulaires ont été pratiquées avant et pendant un traitement par azathioprine à la dose de 1,5 à 2,5 mg/Kg/jour.

L'examen de 1857 métaphases n'a pas permis de mettre en évidence de différence significative entre le nombre d'aberrations chromosomiques constatées chez les sujets traités et non traités.

Par contre, à l'examen de culture de moelle osseuse de sujets atteints de cirrhose, de granulomatose de Wegener, et de lupus érythémateux disséminé, et traités par azathioprine, JENSEN (1967), constate des anomalies chromosomiques variées dans 9,3% des cellules étudiées (cassures chromatidiennes et chromosomiques, fragments acentriques, figures d'échange).

C - ACTION TERATOGENE CHEZ L'ANIMAL

1° - La 6-mercaptopurine

THIERSCH (1954) décrit l'action tératogène de la 6-mercaptopurine chez le Rat. ZUNIN et Coll. (1955) constatent, après injection intrapéritonéale au 7^{ème} et 8^{ème} jour à des Rattes gravides, l'apparition de malformations chez les foetus (hydrocéphalie, anomalies oculaires, microphthalmies, anophthalmies).

CHAUBE et MURPHY (1968) ont retrouvé cette action tératogène de la 6-mercaptopurine, en pratiquant une injection unique de 6-mercaptopurine au 12^{ème} jour de la gestation. Les doses tératogènes vont de 30 à 125 mg/Kg. 90 % des foetus sont malformés. Les auteurs constatent l'existence d'anomalies squelettiques atteignant les vertèbres, les côtes, le bassin et les pattes où l'on note des syndactylies.

TUCHMANN-DUPLESSIS et Coll. (1967) ont montré l'action tératogène de la 6-mercaptopurine dans trois espèces différentes. Ils retrouvent en effet chez la Souris, le Rat et le Lapin le même type de malformations sévères des membres.

2° - Diverses autres antipurines ont été testées

La thioguanine et la 6-chloropurine donnent des anomalies de même type que la 6-mercaptopurine chez le Rat (THIERSCH 1957). Dans cette espèce la thioguanosine est également tératogène.

Enfin d'autres antipurines se sont révélées tératogènes chez le Rat :

mercaptopurine-riboside, 6-hydroxylaminopurine, 9-éthyl-Butyl-mercaptopurine et la mercaptopurine 3-N-oxide (CHAUBE et MURPHY 1968). Tous ces produits entraînent des malformations de même nature, avant tout squelettiques, au niveau des membres surtout, certains entraînent la formation de fentes palatines.

Par contre quatre antipurines n'ont pas manifesté d'action tératogène chez le Rat. Ces produits non tératogènes pour le Rat sont la 2-6-diaminopurine, le 6-chloropurine-riboside, le 6-méthyl-mercaptopurine-riboside et le 9-B-D-ribofuranosyl-6-hydroxylaminopurine (CHAUBE 1968).

3° - L'imuran ou azathioprine

L'imuran ou azathioprine n'est pas tératogène pour la Ratte. En 1962 THIERSCH a montré l'absence de malformation chez les Rats traités par l'azathioprine. Ce fait a été confirmé par TUCHMANN-DUPLESSIS (1965). L'azathioprine donnée à la dose de 2,5 à 10 mg/Kg/jour n'entraîne pas de malformations chez les foetus de Rattes ou de Souris traitées.

Par contre l'azathioprine est tératogène à la dose de 10 à 15 mg/Kg chez le Lapin. En effet 40 à 80 % des foetus de Lapins sont malformés (polydactylies, syndactylies, raccourcissement ou torsion d'un membre, parfois bec de lièvre).

GITHENS et Coll. (1965) ont obtenu des malformations en injectant des doses plus importantes d'azathioprine (20 mg/Kg/jour) par voie intrapéritonéale à des Souris Swiss Webster du 9^{ème} au 11^{ème} jour de la gestation. Ces auteurs constatent la présence d'anomalies squelettiques (des côtes et des vertèbres) chez 10^{des} 17 foetus recueillis au 18^{ème} jour.

Les 4 foetus recueillis au 18^{ème} jour de la gestation de Souris ayant reçu 30 mg/Kg/jour du 9^{ème} au 11^{ème} jour présentaient tous des anomalies squelettiques. Pour des doses plus faibles (4 mg/Kg/jour les deux premiers jours, et 10 mg/Kg/jour du 3^{ème} au 5^{ème} jour de la gestation) l'action tératogène est minime. On note 3 malformations graves sur 99 foetus (2 encéphalocèles, et un méningocèle).

D - ACTION SUR LE FOETUS HUMAIN

Différentes observations de femmes ayant pris des antipurines pendant leur grossesse ont été publiées.

MERSKEY (1956) rapporte l'observation d'une femme traitée par la 6-mercaptopurine à la dose totale de 2,5 mg/Kg dès le début de la grossesse et jusqu'au 7^{ème} mois. Elle donne naissance prématurément

à un enfant de petit poids qu'il meurt au 2^{ème} jour de "membrane hyaline". A l'autopsie il s'agit d'un prématuré sans malformation.

De même on ne note pas d'anomalies chez les enfants de deux autres femmes ayant été traitées par la 6-mercaptopurine en fin de grossesse. L'une reçoit 100 mg/jour de 6-mercaptopurine du 6^{ème} au 8^{ème} mois de sa grossesse pour une leucémie aigüe myéloblastique. Elle donne naissance à un enfant normal (SCHUMACHER 1957). L'autre, dont l'observation est rapportée par ROTHBERG (1959), est atteinte de leucémie myéloblastique et reçoit de 25 à 150 mg/jour de 6-mercaptopurine pendant les quatre derniers mois de sa grossesse. Elle donne naissance à un enfant normal à 4 mois.

Un traitement par la 6-mercaptopurine a été fait de la 6^{ème} à la 8^{ème} semaine de la gestation (1,9 g) associé à de la prednisone (60 à 400 mg/jour) et de la 25^{ème} à la 35^{ème} semaine (1,2 g) dans l'observation de RAVENNA et Coll. (1963) en raison d'une leucémie aigüe monocyttaire. L'enfant est prématuré (2.100 g) mais normal et vivant à 2 mois.

Dans une autre observation ROTHBERG (1959) constate l'absence de malformation chez l'enfant d'une femme traitée par plusieurs produits successivement. Cette femme reçoit 75 mg/jour de 6-mercaptopurine pendant les 4 premiers mois de sa grossesse, puis 8 mg/jour d'aminoptérine pendant 6 jours. Le traitement ultérieur comprend 200 mg/jour de 6-mercaptopurine pendant 10 jours puis 40 mg de desacéthylméthylcolchicine au 6^{ème} mois, enfin 50 mg/jour de 6-mercaptopurine pendant 2 semaines. L'enfant est un prématuré de 6 mois dont l'autopsie n'a pas montré de malformation.

Nous rappellerons ici l'observation de DIAMOND et Coll. (1960). La malade a donné naissance lors de sa première grossesse, au terme de 36 semaines, à un enfant qui est normal à 4 ans, alors qu'elle recevait 100 mg/jour de 6-mercaptopurine pendant toute la gestation. Par contre au cours de la 2^{ème} grossesse elle reçut du Busulfan et de la 6-mercaptopurine et donne naissance à un enfant polymalformé.

SOKAL (1960) rapporte une observation qui lui a été communiquée personnellement par SANDBERG. Cette femme reçoit 175 mg/jour de 6-mercaptopurine du 3^{ème} mois à l'accouchement pour leucémie myéloblastique. L'enfant né à terme est normal à un an.

SINYKIN et Coll. (1962) ont suivi une femme atteinte de leucémie lymphoblastique. Le traitement débuté une semaine après le début de la grossesse comprend : 150 mg/jour de 6-mercaptopurine

et 20 mg/jour de prednisone, et sera poursuivi pendant toute la gestation. L'enfant né à terme est normal à 6 mois.

FRENKEL et Coll. (1960) ont rapporté une observation dans laquelle la malade débute sa grossesse, alors qu'elle reçoit déjà de la 6-mercaptopurine pour une leucémie aigüe. La 6-mercaptopurine est administrée pendant toute la grossesse. L'enfant né à terme est normal à 2 ans et demi.

En conclusion, nous pouvons dire que la 6-mercaptopurine ne semble pas avoir entraîné de malformations dans ces observations. Par contre nous avons décrit ci-dessus (observation n°2) l'existence d'une malformation grave du système nerveux central chez un foetus dont la mère avait été traitée au début de sa gestation par de la 6-mercaptopurine.

2° LES ANALOGUES STRUCTURAUX DES BASES PYRIMIDIQUES

Les bases pyrimidiques entrent dans la composition des acides nucléiques. La thymine et la cytosine sont des constituants de l'ADN. La cytosine et l'uracile entrent dans la composition de l'ARN. On distingue des analogues structuraux de l'uracile et de la cytosine. Ces molécules sont halogénées par le fluor, le brome, l'iode ou le chlore. Dans certains produits une molécule d'arabinose est fixée à la base modifiée, réalisant ainsi un nucléoside anormal. Ces bases pyrimidiques modifiées ou les nucléosides anormaux pourront prendre la place des bases ou des ribosides normaux dans la synthèse des acides nucléiques.

1° - Les fluoropyrimidines

A - MECANISME D'ACTION

Le mécanisme d'action semble double :

- D'une part on a pu montrer expérimentalement l'incorporation du 5-fluorouracile dans l'ARN. Il inhibe, ainsi que la 5-fluorouridine, l'incorporation d'uracile normal dans l'ARN.
- D'autre part les fluoropyrimidines agiraient en inhibant une thymidylate synthetase, enzyme catalysant la méthylation de l'acide désoxyuridilique en acide thymidilique, ce qui entraînerait une inhibition secondaire de la synthèse d'ADN par manque de thymine (COHEN et Coll. 1958). On a constaté que la thymidine supprimait l'effet inhibiteur des fluoropyrimidines dans de nombreux systèmes biologiques.

B - ACTION TERATOGENE CHEZ L'ANIMAL

Les fluoropyrimidines sont tératogènes chez la Souris et le Rat. En injection unique de 0,15 à 300 mg/Kg entre le 7 ème et le 17 ème jour de la gestation CHAUBE et Coll. (1968) décrivent une action tératogène chez le Rat. Les malformations observées sont toujours identiques avec les différentes fluoropyrimidines et comprennent des fentes palatines dans toutes les séries (sauf pour l'acide fluoro-orotique), des anomalies squelettiques des pattes antérieures et postérieures et de la queue. Il n'est pas noté d'anomalies cérébrales. Les auteurs n'ont pas constaté d'action protectrice de la thymidine, qui n'a pas fait disparaître les malformations chez les foetus de Rat.

2° - Les autres pyrimidines halogénées

Ce sont des molécules d'uracile, d'uracile-desoxyribonucléosides ou d'uracile ribonucléoside sur lesquelles sont fixées des molécules d'iode, de brome, de chlore.

A - MECANISME D'ACTION

Ces produits ne se comportent pas comme des inhibiteurs de thymidilate synthétase, mais sont par contre incorporés dans l'ADN des cellules bactériennes où ils prennent la place de la thymidine.

B - ACTION TERATOGENE CHEZ L'ANIMAL

Les pyrimidines halogénées sont tératogènes chez la Souris, le Hamster, le Poulet et le Rat (CHAUBE 1968). Chez le Rat, les pyrimidines halogénées injectées une seule fois le 11 ème ou le 12 ème jour de la gestation entraînent des malformations chez les foetus. Ces malformations sont identiques à celles observées avec les fluoropyrimidines, y compris les fentes palatines. On note en outre aux très fortes doses des anomalies cérébrales avec trois de ces produits: 5-bromo-2-désoxyuridine, 5-chloro-2-désoxyuridine, 5-bromo-1-(2 désoxy-B-D-ribofuranosyl)-5-fluoro-6-méthoxyhydro-uracile. Le dernier produit étudié par CHAUBE et Coll. (1968) (5-iodo-2-désoxyuridine), n'entraîne pas d'anomalies cérébrales.

3° Les composés comprenant de l'arabinose

La cytosine-arabinoside est le produit le plus étudié sur le plan pharmacologique.

A- MECANISME D'ACTION

L'ensemble des travaux montre qu'il empêche la synthèse d'ADN cellulaire et la prolifération cellulaire. Ceci a pu être retrouvé en culture de cellules humaines par CREASY et Coll. (1966).

B- ACTION TERATOGENE CHEZ L'ANIMAL

La cytosine-arabinoside est tératogène chez le Poulet et le Rat. En effet après injection unique, le 10^{ème}, 11^{ème} ou 12^{ème} jour de la gestation, de cytosine-arabinoside à la dose de 20 à 800 mg/Kg, on constate l'existence de malformations chez les foetus de Rattes traitées. Un analogue fluoré de la cytosine-arabinoside est également tératogène à des doses variant de 50 à 200 mg/Kg (CHAUBE et Coll. 1965). Les deux produits entraînent le même type de malformations, qui associent des anomalies des membres et des fentes palatines. Il n'a pas été constaté de malformations cérébrales.

3° LES ANTIFOLIQUES

Les deux principaux antagonistes de l'acide folique sont l'aminoptérine (acide 4-aminoptéroyl-glutamique) et l'améthoptérine dérivé moins toxique, utilisé en clinique comme immunodépresseur (acide N10-méthyl-4-aminoptéroyl-glutamique). En outre certaines molécules de 2-4-diamino-pyrimidines ont également une action antagoniste de l'acide folique.

A- MECANISME D'ACTION

L'acide folique (FH2) encore appelé acide ptéroyl-glutamique, intervient de façon essentielle dans la synthèse de novo des bases puriques. Son dérivé réduit, l'acide hydrofolique (FH4), joue le rôle de coenzyme pour permettre l'incorporation de radical formyl à deux étapes de la purinosynthèse (édification des carbonnes C8 et C2). Le méthotrexate ou améthoptérine intervient en inhibant la dihydrofolate réductase qui permet le passage de l'acide folique (FH2) à l'acide hydrofolique (FH4) (BERTINO 1963).

En l'absence de dihydrofolate réductase on observe une diminution des synthèses d'ADN et des divisions cellulaires. In vitro l'améthoptérine entraîne une inhibition de l'activité de cet enzyme à faible dose. Enfin on a pu mettre en évidence, in vivo, un blocage de conversion des folates en formes réduites lors de l'administration de l'améthoptérine. L'activité de cette drogue ne peut être compensée par l'acide folique, alors que l'acide folinique a un effet antidote et réalise cette compensation.

B - ACTION SUR LES CHROMOSOMES

Si HAMPEL (1968) ne constate aucune anomalie chromosomique dans les cellules humaines in vitro et in vivo sous l'influence de l'améthoptérine, par contre RYAN (1965) par culture de sang périphérique

de 8 sujets atteints de psoriasis et traités par améthoptérine, constate l'existence d'anomalies chromosomiques (cassures chromosomiques, chromosomes anormaux). De même en étudiant les cellules de culture de moelle de quatre sujets atteints de psoriasis et traités par l'améthoptérine, JENSEN (1967) observe des anomalies chromosomiques variées. Dans 10 % des cellules existent des cassures chromatidiennes ou chromosomiques et des fragments acentriques.

C- ACTION TERATOGENE CHEZ L'ANIMAL

L'aminoptérine est tératogène chez le Poulet (KARNOFSKY 1949). Par contre il n'a pas été mis en évidence d'action tératogène chez le Rat avec l'aminoptérine et l'améthoptérine. L'améthoptérine ainsi que l'aminoptérine ont été testées en injection unique de 0,2 à 1,25 mg/Kg chez la Ratte au 11^{ème} ou 12^{ème} jour. Ces deux produits n'ont pas entraîné de malformations foetales. Une dose plus forte (2,5 mg/Kg) d'améthoptérine administrée le 12^{ème} jour entraîne la mort de tous les foetus et ne permet pas de faire apparaître de malformations.

L'administration simultanée d'acide folique supprime l'effet léthal, mais ne fait pas apparaître de malformations (CHAUBE et Coll. 1968). Lorsque les produits sont injectés plus précocement au cours de la gestation, du 7^{ème} au 9^{ème} jour, on ne note pas non plus de malformations mais une mortalité foetale importante. La diminution des doses ne fait que diminuer la mortalité foetale, sans faire apparaître de malformations.

Ces données expérimentales sont opposées aux résultats obtenus lors de carences en acide folique (GIROUD et Coll. 1951). Ils constatent une action tératogène de cette carence chez le Rat.

D- ACTION SUR LE FOETUS HUMAIN

Le foetus humain est particulièrement sensible à l'aminoptérine. On se trouve dans une situation paradoxale pour ce produit qui s'avère tératogène chez l'homme, et ne l'est pas chez le Rat.

1° - L'aminoptérine

L'aminoptérine est tératogène chez l'homme. Ce produit a été utilisé pour réaliser des avortements thérapeutiques, et à cette occasion on a pu constater son action tératogène.

En 1952 THIERSCH rapporte l'emploi de l'aminoptérine chez douze femmes dans un but abortif. Le produit a été donné entre la 3^{ème} et la 8^{ème} semaine de la gestation à des doses variant de 9 à 24 mg en 2 à 5 jours. Dix femmes ont eu un avortement spontané. Deux avortements thérapeutiques chirurgicaux ont été réalisés.

Parmi les foetus, trois sont malformés. Leurs mères avaient reçu de l'aminoptérine entre la 6^{ème} et la 8^{ème} semaine. On a constaté une hydrocéphalie chez l'un, un méningoencéphalocèle chez l'autre, une fente palatine associée à un bec de lièvre chez le troisième. D'autres observations d'anomalies dues à l'aminoptérine ont été publiées. Une femme fut traitée par l'aminoptérine pendant le premier trimestre de sa grossesse à des doses non précisées et donne naissance spontanément à un anencéphale (THIERSCH 1956).

BOURNE (1957) rapporte la survenue d'un avortement à 1 mois chez une femme ayant pris 17 mg d'aminoptérine dans un but abortif.

WARKANY (1959) rapporte la naissance d'un enfant malformé chez une femme ayant reçu 1 mg/jour d'aminoptérine pendant 12 jours au cours du 3^{ème} mois de sa grossesse. L'enfant pesait 1.290 g et présentait des malformations squelettiques importantes, une fente palatine, des oreilles mal ourlées, une immaturité des ovaires, des surrénales et du cortex cérébral.

Enfin MELTZER (1956) publie l'observation d'une femme ayant pris 20 mg/jour d'aminoptérine pendant plusieurs semaines au 2^{ème} et 3^{ème} mois de sa grossesse et ayant donné naissance à un enfant polymalformé. Il existait des anomalies squelettiques variées : pied varus équin, déformation de la tête. L'enfant a une intelligence normale à 4 ans.

L'action tératogène pour le foetus humain de l'aminoptérine semble pouvoir être retenue.

2° - L'améthoptérine

Alors que l'aminoptérine est tératogène chez l'homme, l'améthoptérine ne semble pas entraîner de malformations chez l'enfant, du moins dans les observations publiées. Deux femmes ont été traitées par améthoptérine pendant leur grossesse. Ces observations sont citées par SOFAL (1960), mais n'ont pas été publiées. La première concerne une femme ayant pris de l'améthoptérine pendant le dernier trimestre de sa grossesse (7,5 à 8,5 mois) à la dose totale de 17,5 mg répartis en 10 jours de traitement, puis de la 6-mercaptopurine à la dose de 1,3 grammes en 27 jours pour une leucémie aigüe lymphoblastique. L'enfant, né par césarienne à 8 mois, est normal à l'âge de 2 ans.

La deuxième observation est celle d'une femme ayant pris 29 mg d'améthoptérine entre le 4^{ème} mois et le 5^{ème} mois de sa grossesse puis 2,7 mg de 6-mercaptopurine pour une leucémie aigüe myéloblastique. L'enfant né à terme est normal à 1 an et demi.

Il faut souligner dans ces deux observations le caractère tardif du traitement par l'améthoptérine (dernier trimestre, 4^{ème} et 5^{ème} mois) et son association à un autre antimitotique.

4° LES ANALOGUES DE LA GLUTAMINE

Deux analogues structuraux de la glutamine ont été étudiés. Ce sont :

L'azasérine (D-diazo-acétyl-L-sérine) et le D.O.N. (6-diazo-5-oxo-L-nor-leucine).

A - MECANISME D'ACTION

Ces produits perturbent la synthèse des purines en bloquant la glutamine qui agit comme donneur d'azote en position 9 et 3. Ils ont également un retentissement sur d'autres réactions de transaminations fondamentales pour la purino-synthèse de novo. En faisant agir les analogues structuraux de la glutamine on bloque la synthèse des purines (BROCKMAN 1963).

B- ACTION TERATOGENE CHEZ L'ANIMAL

L'azasérine est tératogène pour le Poulet, le Chien et le Rat. Son action tératogène a été décrite chez le Rat par MURPHY (1956). On observe en effet des malformations chez les foetus dont les mères ont été traitées par une injection unique d'azasérine à la dose de 2 ou 3 mg/Kg au 10^{ème}, 11^{ème} ou 12^{ème} jour de la gestation. On constate l'existence de fentes palatines, des malformations des pattes postérieures et de la queue. Les injections plus précoces ne sont pas tératogènes aux mêmes doses.

Le D.O.N. a une embryo-toxicité dix fois plus forte que celle de l'azasérine (THIERSCH 1957). Il n'entraîne pas de malformations chez les foetus nés de Rattes traitées. En effet l'injection unique du 9^{ème} au 14^{ème} jour de 0,1 à 0,5 mg de D.O.N. n'a pas provoqué de malformations chez les foetus de Rat qui survivent au 21^{ème} jour.

5° LES ANALOGUES DE LA NICOTINAMIDE

A- MECANISME D'ACTION

La nicotinamide participe à la formation de coenzymes, fondamentaux pour le métabolisme cellulaire (coenzyme I ou NAD et coenzyme II ou NADP), qui sont des transporteurs d'hydrogène. Deux analogues structuraux de la nicotinamide, le 6-aminonicotinamide et le 5-fluoro-nicotinamide ont une action antimitotique.

B- ACTION SUR LES CHROMOSOMES

L'action de la 6-aminonicotinamide sur les chromosomes a été décrite par INGALLS (1963) in vivo chez la Souris. Une double étude a été réalisée. D'une part les chromosomes ont été étudiés dans les cellules médullaires de Rattes ayant été traitées par injection de 6-aminonicotinamide 6 jours avant l'examen et ayant des foetus malformés. Sur 84 cellules observées, 30 sont normales, 5 sont polyploïdes, enfin 49 cellules sont porteuses de fragments chromosomiques. Parallèlement 159 cellules de moëlle osseuse de Souris non traitées ont été étudiées. 137 cellules témoins sont normales, 6 présentent une polyploïdie, et dans 16 autres cellules on constate l'existence de fragments chromosomiques.

D'autre part l'étude a porté sur les chromosomes de foetus nés de mères traitées par le 6-aminonicotinamide. L'examen est pratiqué 1 jour ou 6 jours après l'injection du produit à la mère. Cette injection est faite au 13^{ème} jour de la gestation. L'étude des cellules d'embryons prélevés 6 jours après l'injection du produit a permis de constater une diminution de fréquence des anomalies (sauf pour les cassures). En effet 395 cellules ont été étudiées. 242 d'entre elles sont normales, 36 présentent une polyploïdie (9,1 %) et 117 une cassure (29,6 %). Le 6-aminonicotinamide est donc actif sur les chromosomes foetaux. Parallèlement 219 cellules de foetus nés de mères non traitées ont été examinées. On constate 4 polyploïdies, 8 cellules avec des cassures, enfin 207 cellules sont normales.

C- ACTION CHEZ L'ANIMAL

1° - Le 6-aminonicotinamide

Il présente une activité tératogène chez le Poulet, la Souris et le Rat. En effet, INGALLS (1963) a décrit la présence de fentes palatines chez des embryons nés de Souris traitées. Le 6-aminonicotinamide à la dose de 5 à 8 mg/Kg entraîne l'apparition de malformations chez 1'embryon de Rat (fentes palatines, anomalies des pattes antérieures et postérieures).

2° - Le fluoronicotinamide

Par contre, le fluoronicotinamide qui est deux fois plus toxique que le 6-aminonicotinamide, ne provoque pas de malformations chez les foetus de Rat aux doses testées.

III . LES ANTIBIOTIQUES

Différents antibiotiques ont une activité antitumorale et antimétabolique . Certains sont utilisés en thérapeutique humaine.

1° - L'actinomycine D

A- MECANISME D'ACTION

L'actinomycine est le chef de file de ces antibiotiques à action antitumorale. L'actinomycine agit au niveau nucléaire en se fixant sur les liaisons cytosine-guanine de l'ADN. Cette union entraîne une inhibition spécifique de la synthèse d'ARN messager (WHEELER et BENNETT 1962). L'actinomycine est extrêmement toxique. On l'utilise dans le traitement de certaines tumeurs malignes de l'enfant.

B - ACTION TERATOGENE CHEZ L'ANIMAL

L'actinomycine est tératogène chez le Poulet, la Grenouille et le Rat. L'action tératogène chez le Rat a été étudiée par TUCHMANN-DUPLESSIS et Coll. (1960). L'injection intrapéritonéale du 7^{ème} au 9^{ème} jour de la gestation, à des Rattes Wistar, de doses allant de 50 à 100ug/Kg d'actinomycine D, entraîne l'apparition de malformations chez 14 à 56 % des foetus. Ces malformations sont polymorphes et concernent les yeux, le système nerveux central, les viscères, le système cardio-vasculaire et aussi le squelette.

2° - La mitomycine C

La mitomycine est isolée du streptocoque caespitosus.

A- ACTION SUR LES CHROMOSOMES

L'adjonction à des cultures de lymphocytes humains de mitomycine entraîne des anomalies chromosomiques dans ces cellules (COHEN 1969).

B- ACTION TERATOGENE CHEZ L'ANIMAL

La mitomycine C est tératogène chez la Souris (TANIMURA 1961). Par contre CHAUBE et MURPHY (1963) n'ont pas noté d'action tératogène chez la Ratte traitée au 11^{ème} ou au 12^{ème} jour à la dose de 0,5 à 2 mg/Kg.

3° - La streptonigrine

La streptonigrine est isolée du streptocoque flocculus. Cet antibiotique inhibe les synthèses d'ADN.

A- ACTION SUR LES CHROMOSOMES

La streptonigrine entraîne la formation d'anomalies chromosomiques dans les lymphocytes humains quand elle est ajoutée au milieu de culture (COHEN 1969). D'autre part SOUKUP et Coll. (1967) constatent des anomalies chromosomiques dans 7,3 % des cellules étudiées provenant d'embryons nés de Rattes traitées par la streptonigrine.

Ces anomalies chromosomiques sont visibles si l'examen est pratiqué 6 heures après l'injection, mais ne sont plus visibles si l'examen est fait 18 heures après l'injection de streptonigrine.

B - ACTION TERATOGENE CHEZ L'ANIMAL

La streptonigrine entraîne des malformations chez le Rat. WARKANY (1965) constate surtout des anomalies du rachis. CHAUPE et MURPHY (1968) ont confirmé cette action tératogène chez le Rat. Une injection unique de 0,1 à 0,5 mg/Kg le 5 ème ou 6 ème jour et entre le 9 ème et le 12 ème jour entraîne chez les foetus de Rattes traitées des malformations importantes. On constate la présence d'exencéphalie, de fentes palatines, d'agénésie du rachis et de la queue.

4° - La daunorubicine

La daunorubicine entre dans ce groupe des antibiotiques.

A- MECANISME D'ACTION

Nous avons décrit son action tératogène chez le Rat.

B- ACTION SUR LES CHROMOSOMES

Nous avons également décrit son action sur les chromosomes d'animaux traités et les foetus nés de Rattes traitées.

C- ACTION SUR LE FOETUS HUMAIN

Nous avons pu examiner le foetus d'une femme traitée par daunorubicine et vincristine à partir du 3 ème mois de sa grossesse. Le foetus ne présentait aucune malformation macroscopique ni microscopique . (observation n° 3).

IV . LES ALCALOÏDES

Les alcaloïdes sont des produits extraits de plantes ayant la propriété d'inhiber la division cellulaire lors de la métaphase.

1° Les alcaloïdes de Vinca rosea

De nombreux alcaloïdes ont été extraits de cette plante. Seuls certains sont utilisés en thérapeutique humaine.

A - MECANISME D'ACTION

Le mécanisme d'action des différents alcaloïdes de Vinca rosea semble identique. En effet la vincristine et la vinbl^satine inhibent la synthèse d'ARN ribosomal dans un premier temps, puis celle des deux autres types d'ARN, dans les cellules de tumeur ascitique d'Ehrlich greffée à la Souris (CREASY 1964). Ces produits seraient des inhibiteurs du fuseau cellulaire.

B - ACTION TERATOGENE CHEZ L'ANIMAL

La vinbl^satine est tératogène chez le Rat. COHLAN et Coll. (1964) ont noté la présence de malformations dans 8 % des foetus de Rattes traitées. Les foetus sont petits, avec h^ydrocéphalie, in^yencéphalie, rachischisis, malformations des pattes postérieures. Des injections répétées de vinbl^satine du 7^e au 12^e jour à des doses de 25 à 50 mg/Kg/jour entraînent l'apparition de malformations chez les foetus. La mortalité foetale est de 80 % à la dose de 50 mg/Kg/jour de 40 % avec une dose de 25 mg/Kg/jour (COHLAN 1965).

Une injection unique de vincristine à des Rattes le 8^e jour de la gestation entraîne des malformations (surtout bec de lièvre) chez le foetus (DE MEYER 1965).

L'action tératogène de la vincristine chez la Souris a été notée par JONEJA et Coll. (1969). Trois souches de Souris ont été testées, avec des doses de 0,25, 0,30 et 0,35 mg/Kg de vincristine injectée par voie intrapéritonéale en solution à 0,01 %. On constate respectivement avec les trois souches de Souris : 47 % de foetus malformés avec la souche DBA à la dose de 0,25 mg/Kg, 24 % de foetus malformés avec la souche C3 H à la dose de 0,35 mg/Kg, 44 % de foetus malformés avec la souche ICR à la dose de 0,30 mg/Kg. Il s'agit d'anomalies du système nerveux central, des yeux (anophtalmies), des membres, de la queue et des côtes. La plupart des foetus sont porteurs de plusieurs malformations. La souche DBA est la plus sensible à l'action de la vincristine.

C- ACTION SUR LE FOETUS HUMAIN

Nous avons relevé deux observations de femmes ayant été traitées par un alcaloïde Vinca rosea pendant leur grossesse. LACHER (1964) rapporte l'observation d'une femme ayant reçu un traitement de vinblastine intraveineux à la dose totale de 47,8 mg au 5 ème mois de la grossesse. Elle a donné naissance à un enfant normal et vivant à l'âge de 3 mois.

De même AMSTRONG (1964) cite le cas d'une femme ayant reçu de la vinblastine et ayant donné naissance à un enfant normal. Cette femme atteinte de la maladie de Hodgkin reçoit un traitement de vinblastine par voie intraveineuse. La voie orale est ensuite utilisée et sous traitement par la vinblastine commence la grossesse. Pendant toute la durée de celle-ci la femme continue à prendre la vinblastine à la dose de 5 mg/jour, cinq jours par semaine. Elle donne naissance à terme à un garçon normal pesant 3.570 g. Cet enfant est bien portant et vivant à 3 mois.

Nous rapportons ci-dessus une observation de femme recevant de la vinblastine pendant tout le début de sa grossesse (observation n° 1). L'avortement thérapeutique a permis d'étudier deux jumeaux. L'examen macroscopique et microscopique de ces embryons était normal. Il a été noté des anomalies chromosomiques importantes mais peu nombreuses dans les cellules des deux foetus.

2° - Les alcaloïdes de la podophylline

La podophylline et la podophyllotoxine sont des alcaloïdes de plantes.

A - MECANISME D'ACTION

Ils stoppent les mitoses de cellules en culture (ORMSBEE 1947).

B - ACTION TERATOGENE CHEZ L'ANIMAL

Il n'a pas été noté d'action tératogène chez le Rat et la Souris avec ces deux produits. Par contre la toxicité foetale est importante (THIERSCH 1963).

C- ACTION SUR LE FOETUS HUMAIN

CULLIS (1962) rapporte une observation de femme de 24 ans ayant pris des comprimés contenant de petites quantités de podophylline et qui donna naissance à un enfant polymalformé. L'auteur rend la podophylline responsable de ces malformations.

V . DIVERS

De très nombreux produits chimiques de nature variée ont des propriétés antimitotiques, mais n'ont pas trouvé d'utilisation en thérapeutique humaine.

1° L'hadacidine

L'hadacidine entre dans cette catégorie. Il a été isolé de cultures de *pénicillium fréquentans*.

A - MECANISME D'ACTION

Il agit en supprimant la synthèse d'acide adénylique, par inhibition de la synthetase qui catalyse la transformation de l'acide inosinique en acide adénylique. La synthèse de novo des bases puriques s'en trouve fortement altérée.

B - ACTION TERATOGENE CHEZ L'ANIMAL

Le produit est tératogène chez le Rat ainsi que l'ont montré CHAUBE et MURPHY (1963). L'injection unique d'une dose de 2,5 à 7 mg/Kg d'hadacidine entre le 9^{ème} et le 17^{ème} jour à des Rattes gravides entraîne l'apparition de malformations chez les foetus. On note l'existence de malformations des membres, d'anomalies cérébrales, des fentes palatines et de bec de lièvre.

2° L'hydroxyurée

L'hydroxyurée est un antimitotique qui inhibe la synthèse de l'ADN dans les cellules de tumeur ascitique.

A - ACTION SUR LES CHROMOSOMES

L'hydroxyurée entraîne des aberrations chromosomiques dans les cellules de mammifères en culture (BORENFREUND 1964).

B - ACTION TERATOGENE CHEZ L'ANIMAL

L'hydroxyurée est tératogène pour le Hamster et le Rat. CHAUBE et MURPHY (1966) ont décrit l'activité tératogène du produit chez le Rat. Les auteurs constatent en effet l'apparition de malformations chez les embryons nés de Rattes traitées par une injection unique d'hydroxyurée entre le 9^{ème} et le 12^{ème} jour de la gestation. Des doses de 750 à 1.000 mg/Kg injectées une fois font apparaître des anomalies cérébrales, des malformations des membres et des doigts, enfin des anomalies de la queue.

OBSERVATIONS CLINIQUES

PRODUIT	DATE DU TRAITEMENT			ETAT DU FOETUS			AUTEURS	ANNEE
	Nomb. de mois			avort.	malf.	norm.		
	1-2	3-6	7-9					
Moutarde azotée		2				2...	SOKAL	60
	1		1			1...	"	"
		1		1...			"	"
Chlorambucil			1			1...	SMITH	58
		1	1			1...	"	"
	1				1...		SHOTTON	63
Cyclophosphamide	1	1	1		1...		GREENBERG	64
T.E.M.	1					1...	SMITH	58
	1	1		1...			"	"
			1			1...	"	"
Busulfan	1					1...	DENNIS	65
			1			1...	SOKAL	60
	1					1...	REYES	61
	1	1	1			1...	IZUMI	56
	1		1			1...	SHERMAN	58
	1		1			1...	DEREK	66
	1					1...	"	"
	5					5...	"	"
	1	1	1		1...		DIAMOND	60

Tableau VI

SUITE

PRODUIT	DATE DU TRAITEMENT Nomb. de mois			ETAT DU FOETUS			AUTEURS	ANNEE
	1-2	3-6	7-9	avort.	malf.	norm.		
6-mercaptopu- rine	1	1	1			1...	MERSKEY	56:
		1	1			1...	SHUMACHER	57:
	1	1				1...	ROTHBERG	59:
	1		1			1...	RAVENNA	63:
	1	1				1...	ROTHBERG	59:
	1	1	1			1...	DIAMOND	60:
		1	1			1...	SOKAL	60:
	1	1	1			1...	SYNIKIN	62:
	1	1	1			1...	FRENKEL	60:
	1				1	1.....	PERSONNELLE N°	2:
Aminoptérine	12			10	3	9...	THIERSCH	52:
	1				1	1.....	"	"
	1			1		1.....	BOURNE	57:
		1			1	1.....	WARKANY	59:
	1	1			1	1.....	MELTZER	56:
Amethoptérine			1			1...	SOKAL	60:
		1				1...	"	"
Vinblastine		1				1...	LACHER	64:
	1	1	1			1...	ARMSTRONG	64:
	1	1				1...	PERSONNELLE N°	1:
Podophylline	1	1	1		1	1.....	CULLIS	62:
Daunorubicine		1				1...	PERSONNELLE N°	3:

Tableau VI bis

DISCUSSION

L'appréciation du retentissement sur le foetus humain d'un traitement par antimitotique administré à la mère pendant la grossesse demeure très délicate. Le nombre d'observations publiées est réduit. Nous en avons relevé 54 dans la littérature, auxquelles nous ajoutons trois observations personnelles, soit un total de 57. L'étude de ces observations suggère un certain nombre de remarques.

1° - On connaît l'importance de la date du traitement au cours de la gestation dans la survenue de malformations. C'est en effet au cours de la période d'organogénèse que l'intervention d'un facteur extérieur peut entraîner une malformation. L'organogénèse étant terminée à la fin du deuxième mois de la gestation, un certain nombre d'observations publiées (14) n'ont pas de valeur de ce point de vue, le traitement ayant été entrepris à partir du troisième mois.

2° - L'aminoptérine mérite une place à part parmi les substances étudiées. Son action embryotoxique et tératogène est en effet bien connue. Elle fut employée comme abortif il y a une quinzaine d'années, mais n'est plus utilisée en thérapeutique à l'heure actuelle. Sur les 16 observations rapportées, 6 malformations ont été constatées.

3° - Restent donc à discuter les observations où le traitement a été précoce et comprenait un ou plusieurs produits différents de l'aminoptérine. 27 femmes ont été traitées pendant les 2 premiers mois de leur grossesse et l'on a constaté 5 malformations foetales. La grossesse s'est terminée 21 fois par la naissance d'un enfant normal, une fois par un avortement sans que l'on ait de renseignements sur l'état du foetus.

Pris dans leur ensemble ces chiffres semblent montrer une fréquence élevée de malformations après traitement antimitotique au début de la grossesse. Par contre lorsque le traitement a été administré après l'organogénèse, aucune malformation n'a été observée. Etant donnée la diversité des substances utilisées il est en réalité très difficile de préciser quel rôle peut jouer chacune d'elles.

- Une malformation importante a été observée (GREENBERG) après traitement par le cyclophosphamide, qui semble responsable dans ce cas de la malformation. Mais cette observation est la seule que nous ayons trouvée où le traitement comportât du cyclophosphamide.

Toute conclusion générale sur ce produit est impossible.

- Le chlorambucil est probablement responsable de l'agénésie rénale unilatérale, anomalie d'ailleurs compatible avec la vie, observée par SHOTTON.

- 12 observations de femmes traitées par le Busulfan pendant les 2 premiers mois de leur grossesse ont été publiées. Seul DIAMOND a observé une malformation. Le rôle du Busulfan dans sa survenue a été discuté par de nombreux auteurs, d'autant que le traitement comprenait en outre de la 6-mercaptopurine.

- La 6-mercaptopurine n'a pas entraîné de malformation dans les 8 cas retrouvés dans la littérature. Nous rapportons la survenue d'une malformation majeure après traitement au début de la gestation par la 6-mercaptopurine. Nous n'avons malheureusement pas pu préciser les doses de produit utilisées, et le traitement comprenait des corticoïdes qui ont pu avoir un rôle favorisant.

- Enfin on peut se demander si les malformations observées par CULLIS sont bien en rapport avec la podophylline, la quantité de podophylline et la composition exacte des comprimés étant inconnues.

4° - En dehors des malformations reconnues, on peut se poser le problème de l'avenir des foetus d'apparence normale.

D'une part certaines malformations viscérales, telles que celles rapportées par SHOTTON, risquent de passer inaperçues et il n'est pas évident qu'elles aient été recherchées systématiquement dans tous les cas.

D'autre part on peut envisager l'existence de perturbations histologiques, surtout dans le domaine hématologique et gonadique, dont le retentissement peut être tardif. L'observation d'anomalies chromosomiques chez les foetus de morphologie normale est particulièrement troublante à cet égard.

Enfin les antimétabolites ne pourraient-ils avoir un rôle mutagène ? Aucun enfant né de mère traitée n'a eu jusqu'à présent de descendance, et l'on ne peut pas actuellement répondre à cette question.

5° - Il semble intéressant d'envisager le risque que fait courir un traitement antémétabolite par un antimétabolite, lors de la survenue d'une gestation. Une étude de ce problème a été réalisée par VAN THIEL et Coll.⁽¹⁰⁾ Les auteurs ont analysé 88 gestations survenant chez 50 femmes ayant eu un traitement antémétabolite au moins un an auparavant. Ils ne notent aucune augmentation des malformations ou des avortements par rapport à la population générale. Les auteurs concluent à l'absence d'anomalies induites sur les ovocytes par les produits et les doses utilisées (Méthotrexate, actinomycine, vinblastine, moutarde azotée).

Le traitement par un antimétabolite ne semble pas préjudiciable pour les grossesses survenant un an après l'arrêt du traitement. Ce résultat est cependant trop fragmentaire pour permettre une conclusion définitive dans ce domaine.

6° - Malgré l'incertitude que laisse persister l'analyse des données cliniques, on peut souligner un certain nombre de points qui peuvent orienter l'attitude pratique.

a) - Le traitement après le troisième mois est dénué de risque tératogène. Dans un certain nombre de cas, il serait sans doute possible de ne mettre en oeuvre la thérapeutique qu'après la période dangereuse.

b) - Lorsque le traitement est fait pendant les deux premiers mois, la survenue d'une malformation est loin d'être constante. Le risque relatif des différentes substances ne peut être apprécié actuellement. Cependant, le Busulfan, la 6-mercaptopurine, seraient peut-être moins dangereux.

c) - Enfin la notion d'un traitement antérieur à la grossesse ne semble pas être un facteur de malformation ou d'avortement à condition d'un certain recul.

CONCLUSION

1° - Notre travail expérimental nous a permis de montrer l'action tératogène de la Daunorubicine chez le rat. On observe surtout des malformations oculaires, mais aussi cardio-vasculaires et céphaliques.

2° - Nous avons utilisé deux souches de Rats : Sprague-Dawley et Wistar, et nous avons montré que leur sensibilité à l'action tératogène de la Daunorubicine est très différente. Ceci est un exemple de plus de l'importance des interactions génétiques et exogènes dans le déterminisme des malformations. Dans notre expérience, les Rats Sprague-Dawley sont beaucoup plus sensibles que les Rat Wistar. Non seulement les malformations sont plus fréquentes mais aussi les malformations du système nerveux sont plus importantes, et certaines malformations y apparaissent (malformations de la face, des membres) qui ne sont pas observées chez le Rat Wistar.

3° - Par contre nous n'avons pas trouvé d'action tératogène chez la Souris ni le Hamster.

4° - Nous avons pu montrer que la Daunorubicine entraînait des anomalies chromosomiques in vivo chez les Rattes traitées. Des anomalies du même ordre sont retrouvées dans les cellules des foetus de Rat dont les mères ont été traitées par la Daunorubicine, soit par examen direct des mitoses cellulaires, soit par examen de culture de tissus embryonnaires à court terme.

La signification de ces aberrations dans l'apparition des malformations foetales reste d'ailleurs à préciser.

L'étude de la littérature concernant l'ensemble des mitostatiques utilisés en thérapeutique, nous a permis de préciser les points suivants :

- Dans le domaine expérimental, l'action tératogène des antimitotiques est certaine . En effet, si des variations existent dans l'aspect et l'importance des malformations observées, toutes ces substances antimitotiques ont une action tératogène au moins dans une espèce animale. Cependant la variabilité même des résultats d'une espèce à l'autre et le peu de concordance entre les doses utilisées expérimentalement et celles employées en clinique, rendent difficile toute tentative d'extrapolation à l'homme de ces résultats.

- En clinique humaine. L'étude des 54 observations publiées et de nos trois observations personnelles permet de confirmer l'action tératogène de l'aminoptérine mais reste très imprécise quant à l'action des autres antimétabolites sur le fœtus humain. Les observations comportant un traitement à la période d'organogénèse sont peu nombreuses et parfois trop imprécises pour permettre une conclusion. De telles constatations amènent à proposer la publication systématique des résultats d'examens aussi approfondis et complets que possible, de tous les embryons nés de femmes traitées par un antimétabolite. Une telle attitude permettrait seule une appréciation objective du risque tératogène de ces substances sur le fœtus humain.

BIBLIOGRAPHIE

ARMSTRONG, J.G., DYKE, J.W. and FONTS, P.J. (1964) - Vinblastine sulfate treatment of Hodgkin disease during a pregnancy.
Science, 143, 703

BERNARD, J., JACQUILLAT, Cl., BOIRON, M., NAJEAN, Y., SELIGMAN, M., TANZER, J., WEIL, M. et LORTHOLARY, P. (1967) - Essai de traitement des leucémies aigües lymphoblastiques et myéloblastiques par un antimitotique nouveau: la rubidomycine (13057 RP.). Etude de 61 observations.
Presse Méd., 75, 951

BERTINO, J.R. (1963) - The mechanism of action of the folate antagonists in man.
Cancer Res., 23, 1286

BOLLAG, W. (1954) - Cytostatica in der Schwangerschaft.
Schweiz. Med. Wschr., 34, 393

BORENFREUND, E. and KRIM, M. (1964) - Chromosomal aberrations induced by hyponitrite and hydroxylamine derivatives.
J. Nat. Cancer Inst., 32, 667

BOURNE, F.M., FREEDMAN, S.O. and JORON, G.E. (1957) - Intoxication by aminopterin used as an abortification.
Canad. Med. Ass. J., 76, 473

BROCKMAN, R.W. and ANDERSON, E.P. (1963) - Biochemistry of cancer.
Ann. Rev. Biochem., 29, 577

CHAUBE, S. and MURPHY, M.L. (1963) - Teratogenic effects of hadacidin (a new growth inhibitory chemical) on the rat fetus.
J. Exp. Zool., 152, 67

CHAUBE, S. and MURPHY, M.L. (1965) - Teratogenic effects of cytosine arbinoside in the rat fetus.

Proc. Amer. Ass. Cancer Res., 6, 39

CHAUBE, S. and MURPHY, M.L. (1966) - The effect of hydroxyurea and related compounds on the rat fetus.

Cancer Res., 26, 1448

CHAUBE, S. and MURPHY, M.L. (1968) - The teratogenic effects of the recent drugs active in cancer chemotherapy.

in: Advances in Teratology, Woollam ed., Logos Press, London, vol.3, p.181-237

COHEN, M.M. (1969) - Interaction of various drugs with human chromosomes.

Canad. J. Genet. Cytol., 11, 1

COHEN, M.M., FLACK, J.C., BARNER, H.D., DOEB, M.R. and LICHTENSTEIN, J. (1958) - The mode of action of 5-FU and its derivatives.

Proc. Nat.Acad. Sci., 44, 1004

COHLAN, S.Q. and KITAY, D. (1965) - The teratogenic effect of vinca-leukoblastine in the pregnant rat.

J. Pediat., 66, 541

CREASY, W.A. and MARKIW, M.E. (1964) - Biochemical effects of the vinca alkaloids. A comparison of the effect of colchicine vinblastine and vincristine on the synthesis of ribonucleic acids in Ehrlich ascite carcinoma cells.

Biochem. Biophys. Acta, 87, 601

CREASY, W.A., PAPAC, R.P., MARKIW, M.E., CALABRESI, P. and WELCH, A.D. (1966) - Biochemical and pharmacological studies with 1- β -D-arabino-furanosyl cytosine in man.

Biochem. Pharm., 15, 1417

CULLIS, J.E. (1962) - Congenital deformities and herbal "slimming tablets".

Lancet, 2, 511

DANFORTH, C.H. and CENTER, H. (1954) - Nitrogen mustard as teratogenic agent in the mouse.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 86, 705

DeMYER, W. (1965) - Cleft lip and jaw induced in fetal rats by vincristine.

Arch. Anat. Histol. Embryol. 48, 179

DENNIS, L.H. and STEIN, S. (1965) - Busulfan in pregnancy: report of a case.

J.A.M.A., 192, 715

DEREK, W. and WILLIAMS, M. (1966) - Busulfan in early pregnancy. Obstet. Gynec., 27,

DESPOIS, R., DUBOST, M., MANCY, D., MARAL, R., NINET, L., PINNERT, S. PREUD'HOMME, J., CHARPENTIE, Y., BELLOC, A., de CHEZELLES, N., LUNEL, J. et RENAUT, J. (1967) - Isolement d'un nouvel antibiotique doué d'activité antitumorale: la rubidomycine (13057 RP.). Identité de la rubidomycine et de la daunomycine.

Path. Biol., 15, 887

DIAMOND, I., ANDERSON, M. and McCREADY, S. (1960) - Transplacental transmission of busulfan (myleran) in a mother with leukemia.

Pediatrics, 25, 85

Di MARCO, A., GAETANI, M., DORIGOTTI, L., SOLDATI, M. e BELLINI, O. (1963) - Studi sperimentali sull'attività antineoplastica del nuovo antibiotico, Daunomicina.

Tumori, 49, 203

Di MARCO, A., SILVESTRINI, R., Di MARCO, S. e DASDIA, T. (1965) - Inhibitory effect of the new cytotoxic antibiotic daunomycin on nucleic acids and mitotic activity of Hela cells.

J. Biol. Cell., 27, 545

DUBOST, M., GANTER, P., MARAL, R., NINET, L., PINNERT, S., PREUD'HOMME, J. et WERNER, G.H. (1963) - Un nouvel antibiotique à propriétés cytostatiques: la rubidomycine.

C.R.Acad. Sci., 257, 1813

EBERLE, P. and HUNSTEIN, W. (1968) - Chromosomes in patient with Imuran. Human Genetik., 6, 69

FRENKEL, E.P. and MEYERS, M.C. (1960) - Acute leukemia and pregnancy.
Ann. Intern. Med., 53, 656

GAULIER, M. (1968) - Action d'un antimitotique sur les gonades d'embryons de rat.

D.E.A. Biologie Animale Fac. Sciences, Paris

GIBSON, J.E. and BECKER, B.A. (1968) The teratogenicity of cyclophosphamide in mice.

Cancer Res., 28, 475

GIROUD, A. et LEFEBVRES, J. (1951) - Influence tératogène de la carence en acide folique.

C.R.Soc. Biol., 145, 526

GITHENS, J.H., ROSENKRANTZ, J.G. and TUNNOCK, S.M. (1965) - Teratogenic effects of azathioprine (Imuran).

J. Pediat., 66, 959

GREENBERG, L.H. and TANAKA, K.R. (1964) - Congenital anomalies probably induced by cyclophosphamide.

J.A.M.A., 188, 423

GROUCHY, J. de et NAVA, C. de (1968) - Effets cytogénétiques de la rubidomycine (ou daunomycine).

Ann. Génét., 11, 39

HAMPEL, K.E. (1968) - Über die Wirkung von Zytostatika auf die Chromosomen des Menschen.

Int. Z. Klin. Pharmakol. Ther. Toxikol., 1, 322

HASKIN, D. (1948) - Some effects of nitrogen mustard on the development of external body form in the fetal rat.

Anat. Rec., 102, 493

INGALLS, T.H., INGENITO, E.F. and CURLEY, F.J. (1963) - Acquired chromosomal anomalies induced in mice by injections of a teratogen in pregnancy.

Science, 141, 810

IZUMI, H.M. (1956) - Myleran in pregnancy: report of a case.

J.A.M.A., 161, 969

JENSEN, M.K. (1967) - Chromosomes studies in patients treated with azathioprine and amethopterin.

Acta Med. Scand., 182, 445

JONEJA, M. and UNGTHAVORN, S. (1969) - Teratogenic effects of vincristine in three lines of mice.

Teratology, 2, 235

JULOU, L., DUCROT, R., FOURNEL, J., GANTER, P., MARAL, R., POPULAIRE, P. KOENIG, F., MYON, J., PASCAL, S. et PASQUET, J. (1967) - Un nouvel antibiotique doué d'activité antitumorale: la rubidomycine (13057 RP.) 111. Etude toxicologique et pharmacologique.

Arzneimittelforsch., 17, 948

KARNOFSKY, D.A., PATTERSON, P.A. and RIDGWAY, L.P. (1949) - Effects of folic acid "4-amino" folic acid and related substances on the growth of the chick embryo.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 71, 447

LACHER, M.J. (1964) - (Letter to the Editor).

Lancet, 1, 1390

LEMERLE, J. et SCHWEI_SGUTH, O. (1967) - Essai de la rubidomycine sur onze cas de tumeurs solides de l'enfant.

Path. Biol., 15, 971

LePAGE, G.A. and JONES, A.M. (1961) - Purinethiols as feedback inhibitors of purine synthesis in ascites tumor cells.

Cancer Res., 21, 642

MARAL, R., BOURAT, G., FOURNEL, J., GANTER, P., de RATULD, Y. et WERNER, G.H. (1967) - Un nouvel antibiotique doué d'activité antitumorale: la rubidomycine (13057 RP.). 11. Activité antitumorale.

Arzneimittelforsch., 17, 938

MATHE, G., AMIEL, J.L., HAYAT, M., SCHWARZENBERG, L., SCHNEIDER, M., CATTAN, A., SCHLUMBERGER, J.R. et CEOARA, B. (1967) - Essai de traitement des leucémies aigües et de la maladie de Hodgkin par la rubidomycine (ou daunomycine) seule ou en association.

Sem. Hôp. Paris, 43, 2108

MELTZER, H.J. (1956) - Congenital anomalies due to attempted abortion with 4-amino-pteroylglutamic acid.

J.A.M.A., 161, 1253

MERSKEY, C. and RIGAL, W. (1956) - Pregnancy in acute leukemia treated with 6-mercaptopurine.

Lancet, 271, 1268

MONIE, I.W. (1961) - Chlorambucil induced abnormalities of the urogenital system of rat fetuses.

Anat. Rec., 139, 145

MOUSCHEN-DAHMAN, J. and M. (1959) - Chromosomes deficiencies induced with Myleran.

Experientia, 15, 310

MURPHY, M.L. and KARNOFSKY, D.A. (1956) - Effects of azaserine and other growth inhibiting agents on development of the rat.

Cancer, 9, 955

MURPHY, M.L., Del MORO, A. and LACON, C.R. (1968) - The comparative effects of five polyfunctional alkylating agents on the rat fetus with additional notes on the chick.

Ann. N.Y. Acad. Sci., 68, 762

MURPHY, M.L. (1960) - Teratogenic effects of tumor-inhibiting chemicals in the rat.

Ciba Foundation Symposium on Congenital Malformations, Churchill ed. London, p. 78

ORMSBEE, R.A., CORMAN, I. and BERGER, R.E. (1947) - Effects of podophyllin on tumor cells in tissue culture.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 66, 586

RAVENNA, P. and STEIN, P.J. (1963) - Acute monocytic leukemia in pregnancy. Report of a case treated with 6-mercaptopurine in the first trimester.

Amer. J. Obstet. Gynec., 85, 545

REYES, G.R. and PEREZ, R.T. (1961) - Leukemia and pregnancy : observation of a case treated with busulfan (Myleran).

Blood, 18, 764

RICHMOND, J.Y. and KAUFMANN, B.N. (1969) - Studies on busulfan (Myleran) treated leukocytes culture. I Cytological observations.

Exp. Cell. Res., 54, 377

ROTHBERG, H., CONRAD, M.E. and COWLEY, R.G. (1959) - Acute granulocytic leukemia in pregnancy : report of four cases with apparent acceleration by prednisone in one.

Amer. J. Med. Sci., 237, 194

RUSCONI, A. (1966) - Different binding sites in DNA for actinomycine and daunomycine.

Biochim. Biophys. Acta., 123, 627

RYAN, T.J. (1965) -

Brit. J. Derm., 77, 541

SALSER, J.S., HUTCHINSON, D.J. and BALIS, M.E. (1960) - Studies on the mechanism of action of 6-mercaptopurine in cell free preparation.

J. Biol. Chem., 235, 429

SCHMID, E. und BEAUCHINGER, M. (1968) - Chromosomenaberrationen in menschlichen peripheren Lymphozyten nach Endoxan-Stosstherapie gynäkologischer Tumoren.

Dtsch. Med. Wschr., 93, 1149

SCHUMACHER, H.R. (1957) - The use of 6-mercaptopurine in treatment of acute leukemia in late pregnancy.

Amer. J. Obstet. Gynec., 74, 1361

SHERMAN, J.L. and LOCKE, R.V. (1958) - Use of busulfan in myelogenous leukemia during pregnancy.

New england J. Med., 259, 288

SHERMAN, J.L. (1960) - Myleran and malformations.

Pediatrics, 26, 162

SHOTTON, D. and MONIE, I.W. (1963) - Possible teratogenic effect of chlorambucil on a human fetus.

J.A.M.A., 186, 74

SINYKIN, M.B. and KAPLAN, H. (1962) - Leukemia in pregnancy. A case report.

Amer. J. Obstet. Gynec., 83, 220

SMITH, R.B., SHEEHY, T.W. and ROTHBERG, H. (1958) - Hodgkin's disease and pregnancy. Case report and discussion of treatment of Hodgkin's disease and leukemia.

Arch. Intern. Med. (Chicago), 102, 777

SOKAL, J.E. and LESSMANN, E.M. (1960) - Effects of cancer chemotherapeutic agents on the human fetus.

J.A.M.A., 172, 1765

SOUKUP, S., TAKACS, E. and WARKANY, J. (1967) - Chromosomes changes in embryo treated with various teratogen.

J. Embryol. Exp. Morph., 182, 215

STACEY, K.A., COBB, M., COUSINS, S.F. and ALEXANDERS, P. (1958) - The reactions of the "radiomimetic" alkylating agents with macromolecules in vitro.

Ann. N. Y. Acad. Sci., 68, 682

TAMBOISE, E. . . TAMBOISE, A. (1964) - A propos de l'action simultanée d'une moutarde à l'azote (Cyclophosphamide) sur la structure des chromosomes et le développement chez l'embryon de rat.

C. R. Assoc. Anat., 129, 1661

TANIMURA, T. (1961) - Developmental disturbances in the offspring induced by administration of mitomycin C to mice during pregnancy.

Act. Anat. Nippon, 36, 354

TANZER, J., BOIRON, M., JACQUILLAT, Cl., WEIL, M., LEVY, D., et BERNARD, J. (1967) - Effects de la rubidomycine dans la leucémie myéloïde chronique.

Path. Biol., 15, 943

THIERSCH, J.B. and PHILIPS, F.S. (1950) - Effect of 4-aminopteroyl-glutamic acid (aminopterin) on early pregnancy.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 74, 204

THIERSCH, J.B. (1952) - Therapeutic abortions with a folic acid antagonist, 4-aminopteroylglutamic acid (4-amino-PGA) administered by oral route.

Amer. J. Obstet. Gynec., 63, 1298

THIERSCH, J.B. (1954) - Effects of 6-mercaptopurine on the fetus and on reproduction of the rat.

Ann. N. Y. Acad. Sci., 60, 220

THIERSCH, J.B. (1956) - The control of reproduction in rats with the aid of antimetabolites and early experiences with antimetabolites as abortifacient agents in man.

Acta Endocrinol. (Suppl. 28), 37

THIERSCH, J.B. (1957) - Effects of 2-6-diaminopurine (2-6-DP), 6-Chloropurine (CIP) and thioguanine (ThG) on rat litter in utero.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 94, 40

THIERSCH, J.B. (1957) - Effect of O-diazo acetyl-L-serine on rat litter.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 94, 27

THIERSCH, J.B. (1963) - Effect of podophyllin (P) and podophyllotoxin (PT) on the rat litter in utero (28296).

Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 113, 124

TONG, G.L., LIM, P. and GOODMAN, L. (1967) - Identity of rubidomycin and daunomycin.

II Pharm. Sciences, 56, 1691

TUCHMANN-DUPLESSIS, H. (1965) - Différence de réaction au test de tératogénèse de 3 espèces animales à une substance anti-tumorale.

C. R. Soc. Biol., 158, 1984

TUCHMANN-DUPLESSIS, H. et MERCIER-PAROT, L. (1967) - Etude comparative de 2 antipurines sur le développement embryonnaire.

C. R. Ass. Anat., 136, 1005

TUCHAMANN-DUPLESSIS, H. et MERCIER-PAROT, L. (1960) - The teratogenic action of the antibiotic Actinomycin D.

Ciba Foundation, Symposium : Congenital Malformations. (Churchill ed. London), 115

VAN THIEL, O.H., ROSS, G.T. and LIPSETT, M.B. (1970) - Pregnancies after chemotherapy of trophoblastic neoplasms.

Science, 169, 1326

VIG, B.K., KONTRAS, S.T. and SAMUELS, L.D. (1968) - Chromosomes aberrations induced by daunomycine in human cultures, with the apparent synergistic effect of arginine.

Experientia, 24, 271

WARKANY, J., BEAUDRY, P.H. and HORNSTEIN, S. (1959) - Attempted abortion with 4-aminopteroglutamic acid (aminopterin) ; malformations of the child.

Amer. J. Dis. Child., 97, 274

WARKANY, J. and TAKACS, E. (1965) - Congenital malformations induced by streptonigrin.

Arch. Path., 79, 65

WEIL, M., JASQUILLAT, C. et BOIRON, M. (1967) - Traitement des lymphosarcomes par la triple association vincristine-rubidomycine-prednisone (protocole 06 LA 66).

Path. Biol., 15, 967

WHEELER, G.P. (1962) - Studies related to mechanism of cytotoxic alkylating agents-a review.

Cancer Res., 22, 651

WHEELER, G.P. and BENNETT, L.L. (1962) - Studies related to the mode of action of actinomycin D.

Biochem. Pharm., 11, 353

ZUNIN, C. and BORRONE, C. (1955) - L'effetto teratogeno della 6-mercaptopurine.

Minerva Pediat., 7, 66

